

Aus der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. B. Reichart

**Perioperatives Management und Immunsuppression bei
xenogener orthotoper Herztransplantation
im Schwein - Primaten - Modell**

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

vorgelegt von

Alexander B. Rucker

aus

München

2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. B. Reichart

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Meindl
Priv. Doz. Dr. Chr. Klein
Priv. Doz. Dr. P. Nelson

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. P. Brenner

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 06.10.2005

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	3
Abkürzungsverzeichnis.....	5
Einleitung	6
Entwicklung der allogenen Herztransplantation	7
Entwicklung der xenogenen Herztransplantation	8
Grundlagen der Abstoßungsreaktion.....	11
Möglichkeiten zur Vermeidung der hyperakuten Abstoßungsreaktion bei der Xenotransplantation	12
Grundlagen der immunsuppressiven Therapie.....	13
Fragestellung.....	15
Methodik	17
Zielsetzung	17
Endpunkte der Studie	17
Versuchsgruppen.....	18
Spendertiere	19
Empfängertiere.....	19
Tiermanagement.....	19
Perioperatives Management	21
Xenogene Herztransplantation.....	30
Immunadsorption	38
Blut-, Serum-, Abstoßungsdiagnostik und Überwachung der Immunsuppression	39
Histopathologische Untersuchungen der transplantierten Herzen	40
Immunsuppression	40
Statistik	45
Abstoßkrisen und deren Therapie	45
Einschläfern der Tiere	45
Virologie	46
Ergebnisse	47
Ergebnisse der Versuchsgruppen	47
Immunsuppression	73

Diskussion	81
Präoperatives Management	82
Operatives Management	83
Postoperatives Management	83
Überleben und Todesursache	83
Immunsuppression	84
Wachstum transplanteder Schweineherzen	86
„Ausreißer“ in der nicht-transgenen Gruppe.....	86
Ethische Aspekte der Xenotransplantation	87
Infektionsrisiken	87
Schlußfolgerung.....	89
Literaturverzeichnis.....	90
Anhang	105

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
ADA	Immunadsorption
AVA	akute vaskuläre Abstoßungsreaktion
AK	Antikörper
AZ	Allgemeinzustand
EKG	Elektrokardiogramm
HAR	hyperakute Abstoßungsreaktion
Hb	Hämoglobin
hDAF	Human decay accelerating factor
het	heterotop
HZV	Herzzeitvolumen
ICF	Institut für Chirurgische Forschung
LR	Landrasse
MW	Mittelwert
OP	Operation
ort	orthotop
Pav	Pavian
V.	Vena
xHTX	xenogene Herztransplantation

Einleitung

Herztransplantationen stellen die Therapie der Wahl bei irreversiblen, terminalen Herzerkrankungen dar. Im Moment kommen bei dieser Indikationsstellung in erster Linie Transplantate von hirntoten Spendern, d.h. allogene Transplantate, zur Anwendung. Bei entsprechender Compliance erreichen die Patienten postoperativ eine erhebliche körperliche Belastbarkeit und Lebensqualität. In etablierten Zentren beträgt die 1-Jahresüberlebenszeit nach Herztransplantation 80%. Im weiteren Überlebensverlauf ist mit einer 4%-igen jährlichen Sterberate auf Grund chronischer Abstoßungsreaktionen oder Infektionen etc. zu rechnen (1).

1967 wurde in Kapstadt, Südafrika, von Barnard die erste allogene Herztransplantation am Menschen durchgeführt. Seither sind bis 2001 weltweit gut 30.000 Herzen transplantiert worden (1).

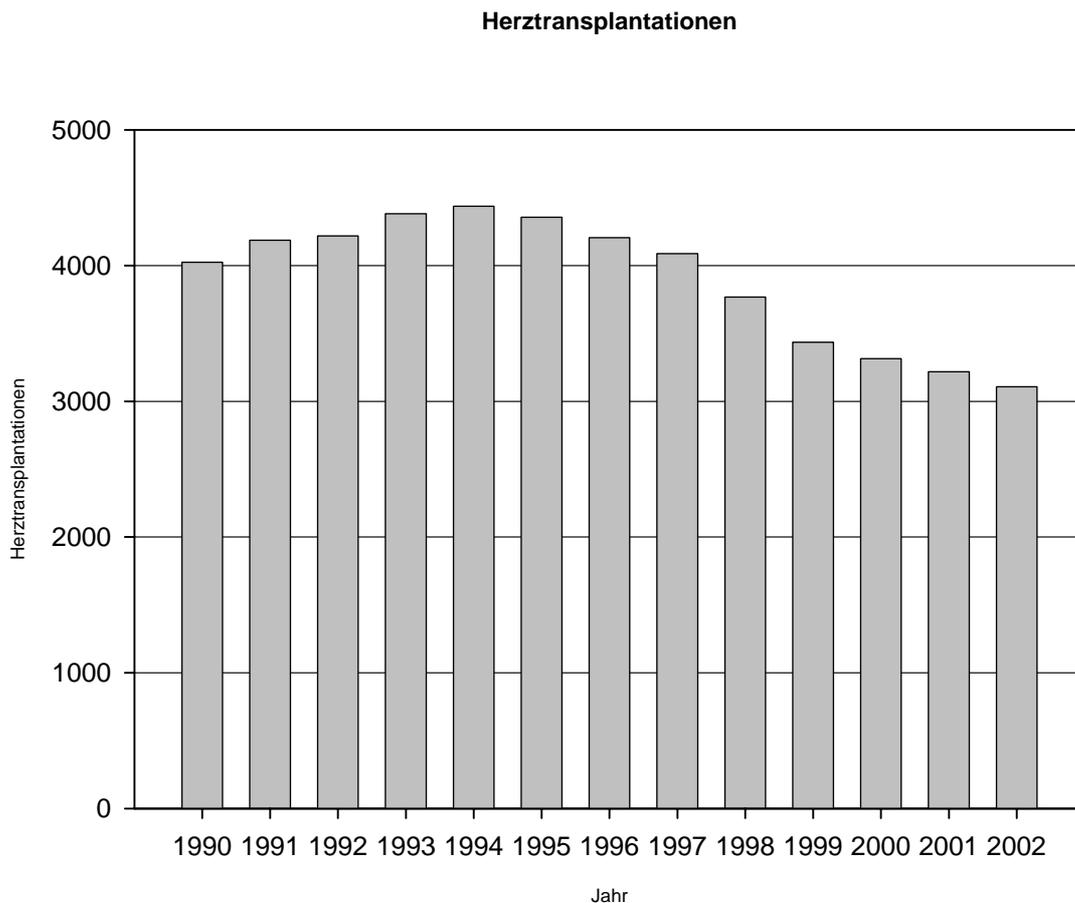


Abb. 1: Anzahl der jährlich durchgeführten Herztransplantationen weltweit

Schätzungen zufolge könnten allein in den Vereinigten Staaten pro Jahr 15.000 Menschen von einer Herztransplantation profitieren (2). Im Gegensatz zum wachsenden Bedarf an humanen Spenderorganen kam es nach anfänglichen Steigerungsraten seit 1988 mit ca. 3.000 jährlich durchgeführten Eingriffen zu einer Stagnation der Transplantationszahlen. Bedingt durch den Spender- bzw. Organmangel sistierte die Anzahl der jährlich vorgenommenen Herztransplantationen auf diesem Niveau und ist in den letzten Jahren tendenziell rückläufig (1). In der Bundesrepublik herrscht eine ähnliche Mangelsituation an Spenderorganen wie in den Vereinigten Staaten. So konnten 2003 bei einem Bedarf von 730 Spenderherzen nur 393 Herztransplantationen durchgeführt werden. Die Diskrepanz zwischen verfügbaren Organen und dem Bedarf führt zu einer geschätzten Mortalität von 20% während der Wartezeit auf ein geeignetes Spenderorgan (3).

Da die Indikationen zur Transplantation auf Grund einer zunehmenden Akzeptanz der Herztransplantationen in den letzten Jahren großzügiger gestellt wurden, jedoch die Bereitschaft zur Organspende in der Bevölkerung unvermindert niedrig ist, vergrößert sich somit die Diskrepanz zwischen Transplantatangeboten einerseits und Patienten auf der Warteliste andererseits zunehmend. Es ist also nicht zu erwarten, daß sich die Situation des Spenderorganmangels in absehbarer Zukunft verbessern wird. Zwar eignen sich mechanische Methoden, wie z.B. Kunstherzen oder Dialyse als immunologisch unbedenklich, allerdings könnten auch experimentelle biologische Vorgehensweisen, wie z.B. die xenogene Organtransplantation, zum Einsatz kommen.

Entwicklung der allogenen Herztransplantation

Die ersten experimentellen Herztransplantationen datieren bis in das Jahr 1905 zurück. Carrel und Guthrie transplantierten Hundeherzen und -nieren, um Gefäßnahttechniken zu untersuchen (4). Mit diesen Experimenten wurden die Fundamente der experimentellen Herztransplantation gelegt. Mann und Priestly beschrieben 1933 erfolgreiche experimentelle orthotope Herztransplantationen, bei denen sie eine durchschnittliche Überlebenszeit von 4 Tagen erreichten (5). Da das Myokard am Versuchsende komplett von Lymphozyten, Monozyten und polymorphkernigen Zellen infiltriert war, zogen Mann et al. aus diesen Beobachtungen den Schluß, daß noch unbekannte biologische Vorgänge das Überleben der Transplantate limitieren (5). Damit beschrieben sie zum ersten Mal das Problem der Abstoßungsreaktion.

Von Marcus wurde erstmals das Problem der Organkonservierung und Myokardprotektion angesprochen (6). 1957 bewiesen Howard und Webb (7), dass heparinisierte und mit einer Kalium-Zitrat-Lösung perfundierte Herzen bei Hypothermie Ischämiezeiten bis zu 8 Stunden ohne Funktionsverlust tolerieren. Als weiterer grundlegender Fortschritt folgte die Entwicklung der Herz-Lungenmaschine durch Kirklin (8) und Lillehei (9), sowie die Myokardprotektion durch Hypothermie und kardioplegische Lösungen als Voraussetzung für die Herztransplantation.

Neben Demikov (10), der die ersten experimentellen orthotopen Herztransplantationen am Menschen durchführte, ist es vor allem Lower und Shumway zu verdanken, daß die Herztransplantation bis zum klinischen Einsatz weiter entwickelt wurde (11, 12). Sie waren die ersten Operateure, die eine einfache und routinemäßig erfolgreiche orthotope Transplantationstechnik anwandten, die bei den Empfängertieren postoperativ zu einer normalen Herzfunktion und Restitution führte. Ermutigt durch die Ergebnisse der Versuche führte Barnard 1967 in Kapstadt die erste erfolgreiche allogene Herztransplantation am Menschen durch (13).

Nach anfänglichen Rückschlägen wegen insuffizienter Immunsuppression in den 70er Jahren entwickelte sich die Herztransplantation Mitte der 80er Jahre zu einem etablierten und in der klinischen Routine zunehmend akzeptierten Therapieverfahren bei terminaler Herzerkrankung. Neben der Entwicklung entsprechender Monitoringverfahren zur Erkennung von Abstoßungsreaktionen (14, 15, 16) ist dies vor allem der Einführung von Cyclosporin A zu verdanken (17, 18, 19).

Entwicklung der xenogenen Herztransplantation

Unter xenogener Transplantation versteht man die Übertragung von Geweben oder Organen zwischen Individuen, die verschiedenen Spezies angehören (20, 21). Wurden anfänglich unter dem Begriff der xenogenen Transplantation sämtliche Spender-Empfänger-Kombinationen subsumiert, erkannte man bald die Ungenauigkeit dieser Definition. Aus diesem Grund erfolgte eine Unterteilung anhand der Spender-Empfänger-Kombination. Hierbei werden drei Klassen entsprechend ihrem Verwandtschaftsgrad unterschieden:

Die xenogene Transplantation

1. innerhalb zoologischer Familien, aber zwischen verschiedenen Tierspezies, die so genannte „Cross-Species-Transplantation“

2. innerhalb einer Ordnung, aber zwischen verschiedenen Mitgliedern einer zoologischen Familie („Cross-Family-Transplantation“)
3. zwischen verschiedenen Säugetierordnungen („Cross-Order-Transplantation“) (22).

In den bisher durchgeführten Studien (23, 24, 25, 26) wurde bewiesen, daß die Überlebenszeit xenogener Transplantate wesentlich vom Grad der zoologischen (nicht genetischen im Sinne der Histokompatibilitätstestung) Verwandtschaft abhängt (27). Je weiter der Spender in der zoologischen Systematik vom Empfänger entfernt ist, desto kürzer sind die Überlebenszeiten. Bei Cross-Order-Transplantationen wie z.B. zwischen Kaninchen und Hund (28), Schaf und Hund (29) oder Schwein und Hund (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37) betragen die Funktionszeiten der transplantierten Organe nur wenige Minuten. Bei Cross-Family-Transplantationen wie z.B. Katze-Hund (38, 39) oder Meerschweinchen–Kaninchen (40) konnten Überlebenszeiten der transplantierten Organe von mehreren Stunden erzielt werden, während bei Cross-Spezies-Transplantationen unter immunsuppressiver Therapie Überlebenszeiten von Monaten verzeichnet wurden (41, 42, 43, 44).

Schon Anfang des 20. Jahrhunderts wurden erstmals klinische xenogene Organtransplantationen erwähnt. 1905 berichtete Princeteau (35) in Frankreich über die Verpflanzung von Nierenteilen eines Kaninchens. Der Empfänger bei der ersten xenogenen Transplantation war ein Kind, das an einer terminalen Niereninsuffizienz erkrankt war. Den Berichten Princeteaus zufolge zeigte der Zustand des Patienten nach der Operation eine sofortige Besserung. Am 16. Tag starb das Kind an den Folgen einer Lungenstauung.

Nach weiteren wenig ermutigenden Versuchen der xenogenen Nierentransplantation, durchgeführt 1910 von Unger et al. in Deutschland (46) und 1923 von Neuhoff et al. (47) in New York, nahm das Interesse an dieser experimentellen Therapieform ab. Erst 1964 führten Reemtsma et al. (48) an der Tulane Universität eine Serie von xenogenen Nierentransplantationen an Menschen durch. Als Spender für die Transplantationen verwendete Reemtsma erwachsene Schimpansen. Durch Einsatz von Prednisolon, Azathioprin und Actinomycin als Immunsuppressiva überlebten die Empfänger bis zu 9 Monate. Mit der Einführung der Dialyse Mitte der 60er Jahre (49) und der Entwicklung einer verbesserten Transplantationsorganisation fanden diese erfolgversprechenden Ansätze der klinischen xenogenen Nierentransplantation ein rasches Ende.

Der erste Versuch, eine xenogene Herztransplantation durchzuführen, wurde 1964 von Hardy et al. (50) mit der orthotopen Transplantation eines Schimpansenherzen unternommen. Der

Patient starb jedoch schon wenige Stunden nach Transplantation an einem Rechtsherzversagen. Auch die Ende der 70er Jahre von Cooley et al. (51) und Ende der 80er Jahre von Barnard (52) durchgeführten xenogenen Herztransplantationen verliefen erfolglos.

Den vorläufigen Höhepunkt markiert der spektakuläre Versuch von Bailey et al. (53), durchgeführt in Loma Linda, Kalifornien. Da für ein Baby mit kongenitalem Herzvitium kein adäquates allogenes Spenderorgan zur Verfügung stand, entschloß sich Bailey, als Überbrückung ein Pavianherz zu implantieren. Trotz des erstmaligen Einsatzes von Cyclosporin A bei einer klinischen xenogenen Transplantation verstarb Baby Fae nach 3 Wochen. Nach der histologischen Untersuchung wurde eine humorale Abstoßung des Organs diskutiert.

Neu entfacht wurde die Diskussion um den klinischen Einsatz des xenogenen Organersatzes 1993 durch Starzl in Pittsburgh, der in zwei Fällen von HBV- und HIV-positiven Patienten die Transplantation von Primatenlebern durchführte. Der erstmalige Einsatz von Tacrolimus als Immunsuppressivum bei dieser Xenotransplantation erzielte nicht die erhofften Ergebnisse. Beide Patienten verstarben nach kurzer Zeit an den Folgen des Organversagens (54).

Die im xenogenen System Primat-Mensch durchgeführten Transplantationen zeigten, daß im Vergleich zur allogenen Transplantation mit wesentlich heftigeren Abstoßungsreaktionen gerechnet werden muß. Neben der zellulären Abstoßungsreaktion spielen bei der xenogenen Abstoßungsreaktion vor allem therapeutisch schwer beeinflussbare humorale Reaktionsmechanismen eine bedeutende Rolle (55). Zurzeit scheint das Ziel der humanen Xenotransplantation im klinischen Einsatz noch weit entfernt. Die zum Teil durchaus beachtlichen Überlebenszeiten xenogener Organe im Primatenmodell demonstrieren, daß es prinzipiell möglich ist, begrenzte Zeiträume zu überbrücken. Durch den Einsatz moderner Immunsuppressiva und im Falle akzeptabler Überlebenszeiten scheint die Xenotransplantation, neben dem Einsatz von Kunstorganen, eine Alternative zur allogenen Transplantation in der klinischen Therapie darzustellen.

Grundlagen der Abstoßungsreaktion

Neben der akuten Abstoßungsreaktion, die bei allen Transplantationen vorkommt und vor allem bei allogenen Transplantationen ein limitierender Faktor ist, spielt bei xenogenen Transplantationen die hyperakute Abstoßungsreaktion die entscheidende Rolle und limitiert neben Infektionen, kardialen und technischen Komplikationen entscheidend das Ergebnis.

Die akute Abstoßungsreaktion ist eine hauptsächlich durch T-Zell-Aktivierung getragene Immunreaktion. Zwei Signale führen hierbei gemeinsam zur Aktivierung:

Die T-Helferzellen und die zytotoxischen T-Zellen erkennen Antigene der allogenen Zelle in Kombination mit einem HLA-Klasse I- bzw. HLA-Klasse II-Molekül und nehmen dann Kontakt mit akzessorischen Zellen (z.B. Makrophagen) auf. Über Zytokine, v.a. Interleukin 1 und Interleukin 6, regen diese die T-Zellen zur Synthese von Interleukin 2 an, welches seinerseits die weitere Proliferation und Differenzierung der T-Lymphozyten stimuliert (56).

Der Beginn der akuten Abstoßungsreaktion ist durch ein interstitielles Ödem und eine geringe Infiltration mononukleärer Zellen gekennzeichnet. Da das Endothel der kleinen Blutgefäße das erste Hindernis für die Lymphozyten auf ihrem Weg ins Myokard darstellt, wird es auch als erstes vom Abstoßungsgeschehen geschädigt (57). Der Verlust der Zellintegrität führt zum Austritt intravasaler Flüssigkeit und zur anfangs gefäßnahen, später diffus über das gesamte Myokard verteilten Ödembildung. Das teils perivaskulär, teils diffus verteilte Infiltrat besteht aus Lymphozyten, v.a. T-Lymphozyten (58), neutrophilen sowie eosinophilen Granulozyten und Histiozyten.

Bei moderater Abstoßung schreiten die Ödembildung und die zelluläre Infiltration fort. Man findet vermehrt Immunoblasten als Zeichen einer Aktivierung der Lymphozyten. Ferner können in diesem Stadium bereits vereinzelt Myozytolysen nachgewiesen werden.

Ein dichtes, diffuses Infiltrat, konfluierende Myozytolysen mit Nekroseherden und disseminierte Einblutungen ins Interstitium aufgrund zerstörter Gefäßendothelien sind Charakteristika einer schweren Abstoßungsreaktion. Auch intravasale Mikrothromben werden regelmäßig beobachtet (59, 60).

Die hyperakute Abstoßungsreaktion findet innerhalb der ersten Minuten der Reperfusion des xenogenen Spenderorgans im Empfänger statt. Ihr zentraler Mechanismus ist die Aktivierung des Komplementsystems. Nach Transplantat-Reperfusion kommt es zur Bindung präformierter, natürlicher Antikörper an Glykoproteine und -lipide auf der

Endothelzelloberfläche des Transplantats, die als antigene Struktur Galaktose- $\alpha(1,3)$ Galaktose-Reste enthalten. Die Synthese dieser Antigene wird durch die α -Galaktosyltransferase katalysiert. Dieses Enzym kommt bei niedrigeren Säugetieren und Neuwelt-Affen vor, während Menschen, Menschenaffen und Altwelt-Affen kein funktionstüchtiges Enzym besitzen (61, 62). Auf Grund der Darmbesiedelung mit Bakterien, die diese Galaktosylreste ebenfalls exprimieren, werden in der frühen Postnatalperiode natürlich vorkommende Antikörper gegen Galaktose- $\alpha(1,3)$ Galaktose produziert, die ab diesem Zeitpunkt im Blut vorkommen.

Durch die Bindung dieser präformierten natürlichen Antikörper, vorwiegend der IgM-Klasse, an das Transplantat kommt es zur Aktivierung des Komplementsystems auf dem klassischen Weg sowie zu einem Verlust der antikoagulatorischen Eigenschaften der endothelialen Zelloberfläche (63).

Makroskopisch kommt es zu einer dunklen Verfärbung und Schwellung des Organs sowie zu einem raschen Funktionsverlust. Mikroskopisch zeigen sich thrombotische Gefäßverschlüsse, venöse Stauungszeichen, eine entzündliche Reaktion und fleckige Nekrosen mit der Ablagerung von Immunglobulinen und Komplement in der Endstrombahn des Transplantats (64).

Möglichkeiten zur Vermeidung der hyperakuten Abstoßungsreaktion bei der Xenotransplantation

Es wurden bisher vier grundlegende Möglichkeiten gefunden, um die hyperakute Abstoßungsreaktion im Schwein-zu-Primatenmodell zu unterdrücken:

1. Inhibition (Neutralisation) oder Adsorption der anti-Galaktose- $\alpha(1,3)$ Galaktose Antikörper
2. Inhibition der Komplementkaskade
3. Verwendung von Organen, deren Oberflächenantigene transgen verändert sind
4. Verwendung von Organen, deren Galaktose- $\alpha(1,3)$ Galaktose-Expression durch transgene Manipulation supprimiert wird.

Diese Möglichkeiten wurden bisher mit aggressiver pharmakologischer Immunsuppression kombiniert, welche allein ineffektiv war, jedoch in Verbindung mit den oben genannten

Maßnahmen die Überlebenszeit verlängerte, wenn dadurch die hyperakute Abstoßungsreaktion verhindert wurde. Es wurde beschrieben, dass eine pharmakologische Immunsuppression die Abstoßungsreaktionen verzögert, aber nicht davor schützt.

Grundlagen der immunsuppressiven Therapie

In der immunsuppressiven Basistherapie finden derzeit verschiedene Behandlungsschemata Anwendung. Die konventionelle Therapie umfasst die Gabe von Kortikosteroiden, Azathioprin und Antithymozytenglobulin, seit 1980 werden Cyclosporin A und Kortikosteroide eingesetzt

Da eine immunsuppressive Monotherapie mit Cyclosporin A eine ungenügende suppressive Potenz aufweist (65, 66, 67), wird in den meisten Transplantationszentren die postoperative Immunsuppression als sog. „triple drug“-Therapie durchgeführt. Hierbei wird eine Kombinationstherapie aus Cyclosporin A, Azathioprin und Prednisolon angewandt. Die klinische Einführung von Cyclosporin A Ende der 70er Jahre ist eine der Hauptgründe für den rapiden Anstieg von erfolgreichen klinischen Organtransplantationen in den 80er Jahren. Auch bei der konkordanten Abstoßungsreaktion von Xenotransplantaten scheint dieses Immunsuppressivum protektive Wirkung zu zeigen (68).

Cyclosporin A ist pharmakologisch ein aus 11 Aminosäuren bestehendes zyklisches Polypeptid, das von dem Bodenpilz *Tolyplocadium inflatum* Gams produziert wird. Erstmals wurden die immunregulatorischen Möglichkeiten von Borel (69, 70) in einer Vielzahl von in vitro- und in vivo-Assays beschrieben. Wegen seiner hydrophoben Eigenschaften wird Cyclosporin A in öligen Lösungen oral, intramuskulär oder auf lipophilen Trägersubstanzen intravenös verabreicht. Das Medikament wirkt selektiv auf die immunregulatorischen Aktivitäten von T-Helferzellen, ohne die Funktion von T-Suppressor-Zellen, B-Lymphozyten, Granulozyten oder Makrophagen zu beeinflussen (71). Der immunologische Haupteffekt von Cyclosporin A ist die selektive Hemmung der Interleukin 2-Synthese über die Bildung von blockierenden Cyclosporin/Cyclophilin-Komplexen. Zusätzlich wird eine reduzierte Expression von Interleukin 2 Rezeptoren an den entsprechenden T-Zellen erreicht (71). Aufgrund dieser Mechanismen ist Cyclosporin A in der Lage, die Zellproliferation und Aktivierung der zytotoxischen T-Helferzellen zu supprimieren. Im Gegensatz dazu beeinflusst Cyclosporin A die Aktivität von präformierten Killerzellen oder Suppressorzellen nicht.

Während Cyclosporin A die T-Zell-unabhängige Antikörperexpression unbeeinflusst läßt, wird die T-Zell-abhängige Antikörperproduktion zum Teil blockiert.

Als Nebenwirkung des Medikaments sind Nephrotoxizität, reversible Hepatotoxizität sowie ein nephrogen bedingter Hypertonus bekannt. Wie bei allen immunsuppressiven Medikamenten ist auch bei der Behandlung mit Cyclosporin A mit einer erhöhten Inzidenz von Lymphomen und Tumoren zu rechnen (72). Trotz dieser Nebenwirkungen gilt Cyclosporin A bei der Prophylaxe von Abstoßungsreaktionen nach Herztransplantationen als Mittel der ersten Wahl. Als therapeutischer Wirkstoffspiegel ist beim Menschen ein Medikamenten-Vollblutspiegel zwischen 500 und 800 ng/ml anzustreben.

Die zweite Stütze einer erfolgreichen Abstoßungsprophylaxe stellen Kortikosteroide dar. Neben der unspezifischen antiinflammatorischen Effekte als Hauptmechanismus beruht die immunsuppressive Wirkung von Kortikosteroiden auf der Hemmung antigenpräsentierender Zellen über eine Blockade der Interleukin 1-, Interleukin 6- bzw. Tumor-Nekrose-Faktor-Produktion. Aus den verschiedenen Wirkprofilen von Steroiden und von Cyclosporin A wird erkennbar, daß sich beide Medikamente in ihrer Wirkungsweise synergistisch ergänzen. Während Cyclosporin A die Interleukin 2-Produktion durch einen direkten Mechanismus (über Cytophilin) blockiert, verhindern Kortikosteroide indirekt eine Interleukin 2-Produktion durch Suppression des von Makrophagen produzierten Interleukin 1. Letztendlich verhindern beide Immunsuppressiva eine Aktivierung von T-Lymphozyten (73, 74, 75).

Eine weitere, relativ unspezifische Eigenschaft von Glucokortikosteroiden ist die Hemmung der Mitose von mit Phytohämagglutinin stimulierten Lymphozyten. Dieser Mechanismus trifft für Lymphozyten, Eosinophile, Monozyten und Basophile zu. Die Anzahl der B-Zellen bleibt unter Kortikosteroidtherapie unverändert, nur unter hochdosierter Therapie läßt sich nach 2-3 Wochen eine Reduktion der Serumkonzentration von IgG und IgA, nicht jedoch von IgM, beobachten. Das Hauptproblem der therapeutischen Steroidanwendung ist, bedingt durch die supprimierte Abwehrlage des Patienten, eine Prädisposition für opportunistische Infektionen. Nebenwirkungen einer generalisierten Steroidtherapie sind ein iatrogen ausgelöster Morbus Cushing, Hypertonus, Koronarsklerose, Magenerkrankungen sowie zahlreiche andere Effekte (73).

Azathioprin gehört zu den Purinanaloga und besitzt als Antimetabolit eine unspezifische Teilungshemmung auf stark proliferierende Zellen (53, 71). Azathioprin und sein Metabolit 6-Mercaptopurin werden in die DNA proliferierender T- und B-Zellen eingebaut und hemmen dadurch den nukleären Nukleotidstoffwechsel. Da das Medikament auf beide Zellreihen, T-

Zellen und B-Zellen, wirkt, beeinflusst es sowohl die T-Zell-vermittelte als auch die humorale Abstoßungsreaktion. Bedingt durch seinen Wirkmechanismus kann Azathioprin nur als prophylaktisches Therapeutikum eingesetzt werden und zeigt bei der Therapie von akuter Abstoßungsreaktion keine Wirkung mehr. Als Nebenwirkungen sind bei längerem Einsatz vor allem eine teratogene Wirkung des Medikaments und die Gefahr einer Leukopenie hervorzuheben (71).

Fragestellung

Die Fragestellung der Untersuchungen am Institut für Chirurgische Forschung war, ob nach Immunadsorption bei Xenotransplantation von Herzen transgener Schweine, die human decay accelerating factor (hDAF) exprimieren, ein besseres Langzeitüberleben von Pavianen zu beobachten ist als in entsprechenden Vergleichsgruppen.

Frühere Studien an Cynomolgusaffen und Pavianen haben gezeigt, daß die hyperakute Abstoßung durch die Erzeugung eines hDAF-transgenen Spendertierstamms weitgehend ausgeschaltet werden und die Überlebenszeit nach kardialer Xenotransplantation verlängert werden konnte, wenn zusätzlich noch eine entsprechende immunsuppressive Behandlung durchgeführt wurde. Dies konnte vor allem im heterotopen Transplantationsmodell gezeigt werden (76).

Ein neuer Aspekt in der vorliegenden Studie ist die zusätzliche Verwendung der Immunadsorption (Säulen-Antikörperadsorption der Immunglobuline IgG, IgM und IgA) zur Behandlung der hyperakuten Abstoßungsreaktion und weiterer xenogener Abstoßungsereignisse.

Vorversuche im in vitro-Xenoperfusionsmodell (AZ: 211-2531.3-39/96) zeigten sowohl bei Vorbehandlung von Humanblut mit Ig-Therasorb-Immunadsorptionssäulen, als auch während der Xenoperfusion im „working heart“-Modus und nach 4-stündiger Ischämiezeit des Xenotransplantats eine weitgehende Aufhebung der hyperakuten Abstoßungsreaktion (77).

Vorstudien zum Primatenmodell wurden von der Regierung von Oberbayern (AZ: 211-2521.3-37/97) zur Technik der Immunadsorption und heterotopen sowie orthotopen Xenotransplantation bei Cynomolgusaffen genehmigt und wurden erfolgreich durchgeführt. In diesen Vorversuchen am Institut für Chirurgische Forschung zeigte sich nach Immunadsorption bei Cynomolgusaffen, in die orthotop Schweineherzen transplantiert

wurden, in der Anfangsphase bis zur vorgeschriebenen Terminierung des Versuchs keine HAR und eine gute Xenotransplantatfunktion (78).

In einer 1997 vorausgegangenen Studie eines Mitarbeiters der Klinik in Cambridge wurden Spenderherzen von transgenen Schweinen, die hDAF exprimieren, orthotop und heterotop in kleine Paviane transplantiert. Die Ergebnisse zeigten, daß die hyperakute Abstoßung durch transgene Manipulation der Spenderschweine weitgehend verhindert werden kann, wobei das maximale Überleben im orthotopen Modell bei 9 Tagen lag (79).

Methodik

Zielsetzung

Diese Versuchsreihe hat mehrere Zielsetzungen:

1. Erstellen und Überprüfen eines perioperativen Managements im Hinblick auf eine klinische Einführung der Xenotransplantation von Schweineherzen auf Menschen.
2. Entwicklung eines wirksamen Schemas zur Immunsuppression.
3. Verhinderung der hyperakuten Abstoßungsreaktion nach Transplantation im Empfänger durch folgende Ansätze:
 - a. Immunapherese (Entfernung der präformierten Antikörper im Empfänger)
 - b. transgene Expression von human Decay Accelerating Factor

Die vorliegende Arbeit führt die unter 1. und 2. genannten Zielsetzungen aus. Die unter 3. genannte Zielsetzung wird in den Arbeiten von Cand. med. V. Eder und Cand. med. C. Wimmer behandelt.

Letztendlich wurde angestrebt, eine möglichst lange Überlebenszeit des xenogenen Transplantats mit Hilfe der immunsuppressiven und immunadsorptiven Behandlung zu erzielen.

Endpunkte der Studie

Folgende Endpunkte wurden definiert, die zur unmittelbaren anschließenden Euthanasierung des Tieres führten:

1. Finale Abstoßung des Transplantats, dokumentiert durch ein Sistieren der Herzaktion
2. Nicht beherrschbare Infektion
3. Medikamententoxizität
4. Verschlechterung des Allgemeinzustandes des Tieres, der ein unzumutbares Leiden verursacht (Entscheidung des verantwortlichen Veterinärarztes)

5. Kardiorespiratorische Insuffizienz
6. Analgetika-refraktäre Abweichung vom natürlichen Verhalten

Versuchsgruppen

Die Versuche in dieser Studie wurden auf vier Gruppen aufgeteilt. Insgesamt wurden 17 Herzen transplantiert. Die Tiere der Gruppen B und D wurden mit transgenen Schweineherzen transplantiert, dabei Gruppe B in heterotoper und Gruppe D in orthotoper Technik. Den Tieren in Gruppe A und C wurden nicht-transgene Herzen von Landrasseschweinen transplantiert, Gruppe A in heterotoper und Gruppe C in orthotoper Technik. Dabei erhielten alle Gruppen, ausgenommen der Gruppe D, eine perioperative Immunadsorption (Kontrollgruppe). Alle Gruppen erhielten eine zusätzliche orale bzw. parenterale immunsuppressive Behandlung.

Gruppe A bildeten Paviane, in die Herzen von Landrasse-Schweinen ohne transgene Veränderungen heterotop transplantiert wurden. Es wurde bei 4 Tieren eine perioperative Immunadsorption durchgeführt, und bei einem Tier eine postoperative Immunadsorption (n=5).

Gruppe B bildeten Paviane, denen Herzen von transgenen Schweinen, eine Kreuzung aus Large White- und Landrasseschweinen, die hDAF exprimierten, heterotop implantiert wurden. Es wurde eine perioperative Immunadsorption bei durchgeführt (n=4).

Gruppe C bildeten Paviane, in die Herzen von Landrasseschweinen ohne genetische Veränderungen orthotop transplantiert wurde. Es wurde eine perioperative Immunadsorption durchgeführt (n=4).

Gruppe D bildeten Paviane, in die Herzen von transgenen Schweinen, eine Kreuzung aus Large White- und Landrasseschweinen, die hDAF exprimierten, implantiert wurden. Diese wurden orthotop ohne Immunadsorption transplantiert (n=4).

Spendertiere

Die Landrasseschweine wurden vom Versuchsgut der LMU München in Oberschleißheim bezogen. Sie waren bei Lieferung 6 - 20 Tage alt und wogen 2 - 4,5 kg.

Die hDAF-transgenen Schweine wurden von der Firma Novartis bezogen, waren 6 - 20 Tage alt und wogen 2 - 4,5 kg. Aufgrund patenschutzrechtlicher Bestimmungen musste höchste Sicherheit in Bezug auf Umgang bzw. Entsorgung der Tiere gewährleistet werden (S1-Stufe).

Die Schweine wurden von Tierpflegern, einem Tierarzt und den Mitgliedern der Forschergruppe betreut.

Empfängertiere

Die Paviane wurden nach gründlichen Untersuchungen auf humanpathogene Erreger von der Firma Bode bezogen. Die Tiere stammten aus Herdenbeständen und mussten aus ökologischen Gründen aus dem Tierbestand entfernt werden. In speziell dafür angefertigten Käfigen wurden sie getrennt von anderen Tieren untergebracht. Die Paviane waren 2 - 4,2 Jahre alt und hatten ein Gewicht von 14,5 – 31 kg. Durch frei zugängliches Trockenfutter und Trinkwasser wurde die Versorgung der Tiere gewährleistet, zusätzlich wurden dreimal täglich frische Nahrungsmittel wie Obst und Gemüse gefüttert.

Die Paviane standen unter kontinuierlicher Überwachung durch Tierpfleger, einen Tierarzt und die Mitarbeiter der Forschergruppe.

Tiermanagement

Schweine

Etwa zwei Wochen vor der Xenotransplantation wurden die transgenen Tiere von der Firma Imutran/ Novartis aus einem Zuchtstall in Correzana/ Italien in das Institut für Chirurgische Forschung (ICF) gebracht und dort unter S1-Sicherheitsbedingungen gehalten.

Paviane

Zwei Wochen vor der Xenotransplantation wurden von der Firma Bode die Paviane an das ICF geliefert. Alle Tiere stammten aus einer schon seit mehreren Jahrzehnten existierenden

Herde eines deutschen Wildparks und wurden vor Auslieferung von der Firma Bode durch Nummernzuweisung gekennzeichnet (Tätowierung oder Ohrmarke). Die Tiere waren hinsichtlich Infektionskrankheiten (Tuberkulose (Tuberculintest), Herpes, SIMV, Hepatitis) abgeklärt worden und erhielten eine i.m.-Injektion Praziquantel (Droncit®, Bayer), um mögliche Bandwurminfektionen auszuschließen. Nach Ankunft am ICF wurden sie zudem von einem Veterinärmediziner untersucht (v.a. bezüglich akuter Infekte).

Die Tiere wurden einzeln in Käfigen gehalten, die nach Rücksprache mit dem Veterinäramt und der Regierung von Oberbayern speziell zur sicheren und sauberen Haltung von Primaten gebaut und installiert wurden. Der Raum, in dem die Tiere gehalten wurden, wurde, soweit praktikierbar, von äußeren Einflüssen isoliert. Die Raumtemperatur wurde im Bereich zwischen 20 - 26° C gehalten, die relative Luftfeuchtigkeit, nach Möglichkeit, zwischen 45 - 70%. Die Umgebung wurde insofern überwacht, als daß kontinuierlich die Temperatur, die Feuchtigkeit und der Status aller an der Luftaufbereitung beteiligten Systeme kontrolliert wurden. Die Beleuchtung richtete sich nach den artspezifischen Bedürfnissen und wurde so gestaltet, daß 12 Stunden Licht und 12 Stunden Dunkelheit pro 24 Stunden bestanden. Der Luftaustausch wurde über ein Lüftungssystem gesteuert.

Futter und Wasser

Jedem Pavian wurden pro Tag 350 g eines Standard-Trocken-Diätfutters (Mazuri Primate Diet SQC) angeboten (Special Diets Services Ltd.). Das Futter wurde jeden Morgen angeboten, die Reste vom Vortag entfernt und gewogen. In der Nacht vor der Operation blieben die Tiere nüchtern.

Wasser war die ganze Zeit verfügbar. In festen Zeitabständen wurden Vitamin C sowie ein Vitamin B12-Präparat verabreicht.

Vollkornbrot, frische Früchte und Gemüse konnten von den Betreuern angeboten werden, um die Umgebung und die Interaktion zwischen Tier und Betreuer zu verbessern.

Inhalt und Zusammenstellung der Diät

SDS Mazuri Primate Diet SQC ist eine zusammengesetzte, körnige Diät mit einer festgelegten Zutatenzusammenstellung. In jeder Herstellungsgruppe der Diät waren die Inhaltsstoffe, mögliche kontaminierende Stoffe und Mikroorganismen, die eine Auswirkung auf die Studie gehabt haben könnten, analysiert. Sie enthielt die wesentlichen Bestandteile für eine ausgewogene Ernährung der Tiere.

Käfige

Die Paviane wurden in speziell nach den Richtlinien zur artgerechten Tierhaltung von Affen gebauten Käfigen der Firma Ehret untergebracht, die vollverschweißt, mit einer Höhe von 177 cm, Breite von 88 cm und Tiefe von 160 cm fahrbar waren. Die Käfige waren aus rostfreiem Stahl gearbeitet und enthielten ein squeeze-back-System (Gittersystem zum Heranziehen der Tiere), ein Futtereingabefach, eine Nippeltränke und einen wechselbaren Gitterboden. Unter jedem Käfig befand sich eine wechselbare Wanne, die Holzspäne als Streu enthielt. Jeden Tag wurden die Käfige gesäubert und neu gestreut. Die verwendeten automatischen Nippeltränken für die Trinkwasserversorgung wurden täglich getestet.

Perioperatives Management

Kurzzeitnarkose

Um die Paviane gefahrlos und schonend zu untersuchen, Blut abzunehmen oder Nahrung bzw. Medikamente über die Magensonde zu geben, wurden sie mit Ketanest i.m. kurzzeitig narkotisiert. Während der Narkose wurde Sauerstoff über Maske insuffliert und die Sauerstoff-Sättigung kontinuierlich mittels Pulsoxymeter überwacht. Der narkotisierte Pavian blieb bis zum Erwachen unter ständiger Überwachung.

Präoperatives Management

Das ausgewählte Spender-Empfänger-Paar wurde einem festgelegten präoperativen Ablauf unterzogen.

Tag -1

An Tag -1 wurde dem Spenderschwein Blut zur Bestimmung verschiedener Blutwerte (siehe präoperative Untersuchungen) abgenommen.

Ebenfalls an Tag -1 wurde der Empfänger einer gründlichen körperlichen Untersuchung unterzogen, bei der vor allem auf Zeichen von Infektionen geachtet wurde (Husten, gesteigerte Produktion von Bronchialsekret, Temperatur, Lungenauskultation, Ultraschall, RR). Dazu wurde er in Kurzzeitnarkose gelegt.

Tag 0

Der Spender und der Empfänger blieben 12 Stunden vor der Operation nüchtern.

Eine Stunde vor Operationsbeginn wurde der Empfänger auf die Transplantation vorbereitet. Um ihn aus dem Käfig zu holen, wurde er in Kurzzeitnarkose gelegt. Zur Kontrolle der Sauerstoffsättigung im Blut wurde ein Pulsoxymeter an der Zunge angelegt und gleichzeitig Sauerstoff insuffliert. Zu jeder Zeit bestand Intubationsbereitschaft und die Möglichkeit zur maschinellen Beatmung.

Als nächstes wurde eine Braunüle als peripherer venöser Zugang in die V. parva der Unterschenkel gelegt und gut fixiert. Dieser Zugang wurde mit einer langsam infundierten Ringer-Lactat Lösung offen gehalten.

Nachdem ein sicherer peripher-venöser Zugang bestand, wurde mit der OP-Vorbereitung fortgefahren. Dazu wurden mit einem elektrischen Rasierer die Bauchdecke (für die Operation), beide Leisten (zum Legen des zentralvenösen Katheters), die Beine sowie der Brustbereich rasiert.

Danach wurde der Empfänger in den OP-Bereich transportiert und auf dem Operationstisch in Rückenlage fixiert. Dort wurde er mit EKG, Blasenkatheter, Magenkatheter, ösophagealer und rektaler Temperatursonde und Wärmedecke versorgt. Unter weiterhin ständiger Überwachung der Sauerstoffsättigung wurde mit der Allgemeinnarkose begonnen. Nach erfolgreicher Einleitung, Intubation und angeschlossener maschineller Beatmung wurde der Empfänger unter fortwährender intensivmedizinischer Überwachung in Allgemeinnarkose gehalten. Jetzt begannen die Vorbereitungen für die Immunadsorption. Dazu wurde in die V. femoralis ein Katheter mit drei Lumina gelegt. Nachdem alle Vorbereitungen für die Immunadsorption getroffen worden waren, konnte diese beginnen.

Während beim Empfänger die Immunadsorption lief, wurde das Spenderschwein für die Organentnahme vorbereitet.

Das Spenderschwein wurde nach Gabe von Azaperon, Ketamin und Xylazin in Kurznarkose gelegt. Durch ein Pulsoxymeter wurde kontinuierlich die Sauerstoffsättigung kontrolliert, und bei Bedarf Sauerstoff insuffliert. Nach der Anlage eines periphervenösen Zugangs in einer Vene am Ohr wurde der Spender an Bauchdecke, Brust und Rücken rasiert. Anschließend wurde der Spender in den OP-Bereich transportiert und in Rückenlage auf dem OP-Tisch fixiert. Als nächstes wurden EKG und Pulsoxymeter angelegt. Es erfolgte nun eine

Tracheotomie, Allgemeinnarkose und maschinelle Beatmung. Zur invasiven Blutdruckmessung wurde eine Meßsonde in der A. carotis plaziert, zusätzlich ein großlumiger Venenkatheter in die V. jugularis interna gelegt.

Nach der Entnahme des Spenderherzens oder parallel dazu konnte mit der Transplantationsoperation am Empfänger begonnen werden, wie im Weiteren beschrieben wird.

Präoperative Untersuchungen

Während der Anpassungszeit der Tiere im Institut für Chirurgische Forschung wurden Blutproben von Spender- und Empfängertieren, und von letzteren zusätzlich 1 bis 2 Blutkonserven mit ca. 50 ml abgenommen. Von den Empfängertieren wurden die Blutproben für folgende Untersuchungen abgenommen:

Klinische Chemie, Klinikum Großhadern:

1. Hämatologie, Serologie und Herzenzyme

Institut für Chirurgische Forschung:

1. Antipig-Antikörper-Titer
2. Blutgaswerte
3. Elektrolyte, Notfallhämatologie

Postoperatives Management

Nach der Operation ließ man das Tier aus der Narkose mit Fentanyl über Perfusor bis auf eine Sedierung (Azaperon) unter Infrarotlampen bei 37°C und unter Sauerstoffzufuhr aufwachen. Bevor das Tier von der Anästhesie vollständig aufwachte, wurden alle Drainagen und arteriellen bzw. zentralvenösen Zugänge gezogen und es in seinen mit Lammfellen und Heizlampen ausgestatteten Stall, in dem es auch schon vor der Operation untergebracht war, zurückgebracht.

Hatte der Empfänger die ersten 24 Stunden ohne größere Zwischenfälle gut überstanden, wurde er danach in seinen angestammten Käfig im normalen Aufenthaltsbereich im Tierstall gebracht. Dort fand jeden Morgen und Abend eine körperliche Untersuchung mit Ultraschall, EKG und Blutabnahme in Kurznarkose statt. Gleichzeitig wurden über die jedes Mal neu

gelegte Magensonde hochkalorische Nahrung und orale Medikation verabreicht. Die i.v. Medikation und Flüssigkeit wurde durch einen periphervenösen Zugang verabreicht. Im Ganzen dauerte diese Behandlung ca. 30 Minuten. Danach wurde der Empfänger zurück in den Käfig gelegt und bis zum Aufwachen beobachtet.

Die postoperative Analgesierung wurde mit Buprenorphinhydrochlorid durchgeführt (0,01 mg/kg i.m.) und dem klinischen Befinden der Tiere angepasst. Metoclopramid wurde ab dem ersten postoperativen Tag morgens gegeben (1,0 mg/kg s.c.) und auf bis zu 3,0 mg/kg/d gesteigert, wenn Nausea und Emesis auftraten. Alternativ wurde bei weiterhin bestehenden Beschwerden Ondansetron 0,1 mg/kg i.m. verabreicht. Zur Infektionsprophylaxe erhielt der Empfänger Zinacef 0,3 g für die ersten 5 postoperativen Tage. Vom abgenommenen Blut wurde der Antipig-Antikörper-Titer bestimmt, der zusammen mit den anderen bestimmten Blutwerten als Indikator für eine erneut durchzuführende Immunadsorption und die Dosierung der Immunsuppression galt.

Empfängertiere wurden die ersten 48 Stunden postoperativ ununterbrochen überwacht. Es wurden solange Wärmelampen zur Erhaltung der Körperwärme benutzt, bis der Veterinärmediziner einen weiteren Gebrauch als nicht mehr notwendig erachtete.

Am Tag vor der Transplantation wurde dem Tier eine einzelne Dosis von Metoclopramid (Paspertin, 10 mg/2 ml Lösung) verabreicht. Ab Tag 1 wurde ihm nach Ermessen des Veterinärmediziners täglich eine einzelne Dosis (bzw. wenn nötig, mehrere Dosen) subkutan (1,0 ml/kg) verabreicht.

Abhängig vom klinischen Zustand des Tieres wurde ihm nach Anweisung des Veterinärmediziners, des zuständigen Wissenschaftlers oder dessen Mitarbeiters Futter und/oder flüssige Nahrung angeboten.

Postoperative Beobachtungen

Es wurden in dieser Studie folgende Punkte beobachtet:

Klinisches Erscheinungsbild

Alle Zeichen von Gesundheit, Krankheit und/oder Reaktionen auf eine Behandlung wurden aufgezeichnet. Die Tiere wurden täglich von 08:30 Uhr bis 17:00 Uhr (auch am Wochenende und an Feiertagen) beobachtet.

Nach der Transplantation wurde jedes Tier mindestens zweimal täglich aus dem Stall genommen (z.B. zur Zeit der Medikation am Morgen), um den Allgemeinzustand zu beurteilen und die Wunden zu untersuchen.

Körpergewicht

In der präoperativen Zeit wurde das Körpergewicht wöchentlich gemessen, an Tagen vor OP und postoperativ täglich. Die Tiere wurden immer vor der Morgenmedikation gewogen.

Futteraufnahme

Die nicht aufgenommene Menge Futter (Standard-Trockendiät) und die Menge, die durch Ausspucken der Tiere verloren ging (geschätzt), wurden auf täglicher Basis während des Experiments aufgezeichnet. Mit Hilfe dieser Daten wurde die tatsächliche Nahrungsaufnahme der Tiere berechnet.

Wasseraufnahme

Über die Dauer des gesamten Experiments wurde die Wasseraufnahme pro Tag jedes Tieres aufgezeichnet.

Urinausscheidung

Die tägliche Urinausscheidung wurde für jedes Tier ab 48 Stunden vor und bis 48 - 72 Stunden nach der Transplantation aufgezeichnet. Darüber hinaus wurde die Urinausscheidung geschätzt.

Sterblichkeit

Die Umstände, die den Tod eines Tieres herbeigeführt hatten, wurden im Detail aufgezeichnet. Eine vollständige Obduktion wurde durchgeführt, um die genaue Todesursache herauszufinden.

Postoperative Untersuchungen

Elektrokardiographie (EKG)

Nach der Transplantation wurden täglich EKGs durchgeführt. Die Untersuchungen wurden jeden Tag etwa zum gleichen Zeitpunkt vorgenommen (wenn das Tier morgens zur Untersuchung des Allgemeinzustands oder zur Medikation aus seinem Käfig genommen wurde).

Die EKG-Untersuchungen wurden mit einem Mehrkanal-EKG abgeleitet. Das bedeutete: Extremitätenableitungen I, II, III (Einthoven), aVR, aVL, aVF (Goldberger); 10 mm = 1 mV; Papiervorschub: 25 mm/sec; eine zusätzliche Ableitung II wurde bei Papiervorschub 50 mm/sec aufgezeichnet.

Die Aufzeichnungen wurden zur Unterstützung des klinischen Managements von einem EKG-Spezialisten ausgewertet.

Blutproben

In der postoperativen Zeit wurden täglich Blutproben abgenommen. Welche Blutuntersuchungen im Einzelnen gebraucht wurden, wurde vom Studienleiter am Tag vor der Blutabnahme bestimmt. Die Blutabnahme fand am Morgen noch vor der Medikation statt, um folgende Untersuchungen durchzuführen:

(a) Laboruntersuchungen, die in der Klinischen Chemie im Klinikum Großhadern durchgeführt wurden:

Die Untersuchungsergebnisse der Hämatologie und der Biochemie wurden, sobald verfügbar, zur Kenntnisnahme per Fax an den Studienleiter und den aufsichtsführenden Chirurgen versendet. Folgende Parameter wurden gemessen:

Hämatologie	Einheit
Hämatokrit	%
Hb	mg/dl
Erythrozyten	$\times 10^{12}/l$
Leukozyten	$\times 10^9/l$
Thrombozyten	$\times 10^3/\mu l$

Differentialblutbild	Einheit
Neutrophile (N)	/ μ
Lymphozyten (L)	/ μ
Eosinophile (E)	/ μ
Basophile (B)	/ μ
Monozyten (M)	/ μ
Makrophagen	/ μ

Tab. 1: Laboruntersuchungen Hämatologie

Für die Untersuchung wurde 0,3 ml Blut abgenommen und mit in 0,5 ml EDTA versetzt. Die Untersuchungen wurden mit einem Bayer-Technikon H1E Hämatologie Analyser durchgeführt.

Biochemie	Einheit
Gesamtprotein	g/l
Gesamtimoglobulin	g/l
Zusätzlich IgG, IgM und IgA	g/l
Komplement: C3, C4	g/l
Gesamtprotein minus Albumin	g/l
Harnstoff	mg/l
Kreatinin (Krea)	mg/l
Natrium (Na)	mmol/l
Kalium (K)	mmol/l
Kalzium (Ca)	mmol/l
anorganisches Phosphat (P)	mg/dl
Chlorid (Cl)	mmol/l
Albumin (Alb)	g/dl
Osmolarität (Osmol)	mosmol/kg
Bilirubin total (Bilirubin)*	mg/dl

Tab. 2: Laboruntersuchungen Biochemie

Für die Untersuchung wurden 0,7 ml Blut in einem heparinisierten Mikrocontainer verwendet (untersucht mit Hitachi 737 clinical chemistry analyser).

Die folgenden Parameter wurden mit einem Roche Cobas Zentrifugenanalyser mit passendem BCL-Kit untersucht (Reaktionstemperatur: 30° C):

Glutaminpyruvattransaminase (GTP)*, (Alaninaminotransferase)	U/l
Glutaminoxalacetattransaminase (GOT), (Aspartataminotransferase)	U/l
Amylase (Amyl), Reaktionstemperatur: 37° C	U/l
Lactatdehydrogenase (LDH)	U/l
Creatinphosphokinase (CPK) und CK-MB	ng/ml
Troponin I	ng/ml
Harnsäure (Harnsäure)	mg/dl

Tab. 3: Laboruntersuchungen 2 (* Diese Parameter wurden für einzelne Tiere nur dann untersucht, wenn ihr klinischer Zustand das erforderte und mit dem zuständigen Veterinärmediziner Rücksprache gehalten worden war.)

(b) Blutproben, die zum Teil am Institut für Chirurgische Forschung (ICF) untersucht wurden:

Antipig-Antikörperspiegel (Serum)

0,5 ml einer Probe wurden in einem flachen Mikrocontainer im ICF nach Antipig-Antikörpern untersucht (hämolysischer Assay).

Komplementaktivität

(Plasmaprobe, hämolysischer Assay), Durchführung am ICF.

Cyclosporin A-Spiegel (CyA)

0,2 ml in 0,5 ml EDTA-Röhrchen. Die Proben wurden im Klinikum Großhadern auf den Cyclosporin A-Spiegel untersucht (monoklonal und polyklonal).

Mycophenolat-Spiegel (MMF)

0,5 ml in EDTA. Diese Proben wurden ebenfalls im Klinikum Großhadern untersucht. Am ersten Tag, an dem MMF verabreicht wurde, wurden Blutproben zur Stunde 0, zur Stunde 2 und zur Stunde 12 nach der ersten Dosis abgenommen.

Herzenzyme (CK, CK-MB, GOP, GPT, Troponin I)

Die Proben (je 0,5 ml) wurden im Klinikum Großhadern analysiert. Abgenommen an den Tagen -1, 0 und 1 und danach jeden Montag, Mittwoch und Freitag, bis der Studienleiter andere Anweisung gab.

Die Blutproben wurden vor der morgendlichen Medikation abgenommen. Sie wurden so versandt, daß sie noch vor 11.00 Uhr im Klinikum Großhadern oder ICF eintrafen und untersucht werden konnte.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden, falls notwendig, zur Berechnung der Dosis der immunsuppressiven Therapie verwendet.

Präletale Blutproben

Bevor das Tier eingeschläfert wurde, wurden Blutproben in heparinisierten Blutröhrchen abgenommen. Nach Zentrifugation wurde das Plasma/ Serum separiert und tiefgefroren, bevor es weiterverarbeitet wurde.

Transthorakale Echokardiographie

Täglich wurde eine transthorakale Echosonographie zur Pumpfunktionsmessung (v.a. Ejektionsfraktion (EF), Fractionshortening (FS) und Bestimmung eines Perikardergußes und/ oder Thromben) durchgeführt.

Xenogene Herztransplantation

Operationszeitpunkt und Spender-Empfänger-Korrelation

Damit das Herz des Spenderschweins die im Pavian benötigte Herzarbeit leisten konnte, und die Größe des Transplantats mit dem zur Verfügung stehenden Platz im Perikard des Empfängers übereinstimmte, mussten der Operationszeitpunkt und die Wahl des Spenders für

einen bestimmten Empfänger genauestens überlegt werden. Dazu wurden folgende Parameter berücksichtigt:

1. Der Empfänger hatte ein Gewicht von 10-20 kg.
2. Der Spender hatte ein Gewicht von ca. 2/3 des Empfängergewichts (davon geht man anhand von Daten aus früheren Versuchen aus).
3. Der Empfänger zeigte keine Krankheitssymptomatik, die präoperativen Untersuchungen ergaben keine Auffälligkeiten der untersuchten Parameter.
4. Antipig-Antikörper-Titer
5. CH50
6. Blutgruppen

Anästhesie und Monitoring

Anästhesie bei der Spenderoperation

Das Spendertier blieb 12 Stunden vor der OP nüchtern (über Nacht). Ihm wurde Ketamin mit einer Dosis von 20 mg/kg als i.m.-Injektion verabreicht und es wird mit Stresnil (Azaperon) als Sedativum prämediziert. Danach wurde es auf dem OP-Tisch in Rückenlage gelagert. Zur maschinellen Beatmung wurde eine Tracheotomie durchgeführt, und mit einem Gasgemisch aus $N_2O/O_2 = 1:1$, und Anreicherung von 1 - 2% Isofluran beatmet.

Anästhesie bei der Empfängeroperation

Das Empfängertier blieb 12 Stunden vor der Operation nüchtern (über Nacht). Noch im Käfig, mit nach vorne ziehbarer Rückwand, wurde dem Tier, in Anwesenheit eines Tierpflegers, eine i.m.-Injektion Ketamin (15 mg/kg) und Rompun (2 - 4 mg/kg) verabreicht. Nach Wirkungsbeginn der Sedierung wurde das Tier aus dem Käfig geholt, und auf einem Behandlungstisch platziert. Es wurde im Bereich des Thorax, der Leisten und Arme (zum Legen intraarterieller und intravenöser Zugänge), sowie an den Schultern (EKG) rasiert und in den OP-Bereich gebracht. Dort wurde es in Rückenlage mit Unterlage von Fellen und einer Erdungselektrode auf dem Operationstisch positioniert. Bei Gabe von 100 % O_2 über Sauerstoffmaske, sowie ständigem EKG-Monitoring, wurden nach entsprechender Desinfektion in der Leiste in Seldinger-Technik ein arterieller Zugang in die A. femoralis (Blutdruck-/ Blutgasmessung), sowie ein dreilumiger zentralvenöser Katheter in die

V. femoralis eingelegt. Über letzteren wurde zur Einleitung der Narkose initial Fentanyl (0,02 mg/ kg), Midazolam (0,33 mg/ kg) und Pancuronium (0,1 mg/ kg) verabreicht. Zur oralen Intubation wurde der Rachen mit Xylocain- Spray lokal anästhesiert und der Tubus (Gr. 3, 5 - 5; mit Xylocain-Gel bestrichen) mittels Laryngoskop eingeführt. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde mit einem Gemisch aus O₂ und Isofluran (0,2 - 0,8 %) beatmet. Propofol wurde i.v. infundiert. Die Körperkerntemperatur, gemessen über eine naso-ösophageale und eine rektale Sonde, wurde während der OP mittels einer Heizdecke als Unterlage und zweier Rotlichtstrahler im normothermen Bereich gehalten. In die Harnblase wurde ein Kinderblasenkatheter gelegt und dieser mit einem Sammelgefäß (mit ml-Skala) verbunden. Noch vor Beginn der OP wurde das Tier antibiotisch mit Cefuroxim (50 mg/kg) abgedeckt. Zur Verhinderung der Hypersalivation wurde Atropin (0,05 mg/kg) verabreicht. Zur Volumensubstitution und als Trägerflüssigkeit für i.v.-Gaben über den zentralvenösen Katheter wurde Humanalbumin 5 % verwendet, um eine Überwässerung zu vermeiden.

intraoperative Hämatologie- und Biochemie-Labormessungen

Hämatologie: Hämoglobin, Hämatokrit, Leukozyten, Lymphozyten, neutrophile Granulozyten, Thrombozyten, Antikörper-Titer (Antipig-Antikörper)

Biochemie: art. Blutgase (pO₂, pCO₂), pH, H⁺, base excess, Bikarbonat, Kalium, Natrium, Chlorid, Ca⁺⁺, Harnstoff

Gerinnung: Quick, aPTT, ACT, Thrombozyten, Fibrinogen, AT III, Protein S und C

Technik der orthotopen Herztransplantation

Für die Operation stand ein Operationssaal im ICF zur Verfügung, in dem man gleichzeitig an Spender und Empfänger operieren konnte. Es wurde versucht, die Geräte und Maschinen möglichst so einzusetzen, wie man sie auch bei Operationen an Menschen verwenden würde.

Spenderoperation

Zur Entnahme des Spenderherzens wurde wie folgt vorgegangen:

Es wurde eine mediane Sternotomie durchgeführt. Das Perikard wurde longitudinal geöffnet. Danach wurde ein A. pulmonalis-Katheter in die V. jugularis oder die V. cava sup. eingeführt, um das Herzzeitvolumen (HZV) zu messen. Die Aorta asc. wurde von der A. pulmonalis getrennt, um ein späteres Abklemmen zu ermöglichen. Die V. cava sup. wurde auf Höhe der V. azygos mobilisiert, um eine folgende V. cava sup.-Ligatur oberhalb des Sinusknotens zu

ermöglichen. Zwei Haltebänder wurden dann um die V. cava sup. gelegt, aber zu diesem Zeitpunkt nicht ligiert. Die V. cava inf. wurde mobilisiert.

Das Schwein wurde nun vollständig heparinisiert (400 IE/kg) und die activated clotting time (ACT: > 400 s) kontrolliert. Eine Kanüle zur Kardioplegiegabe wurde in die Aorta ascendens eingeführt. Die V. cava sup. wurde nun doppelt ligiert und zwischen den Ligaturen durchtrennt. Die V. cava inf. wurde ca. 2 cm oberhalb des Zwerchfells abgeklemmt und eröffnet. Nach Abklemmen der Aorta asc. wurden ca. 500 ml Kardioplegielösung (Celsior®-Lösung) mit einer Temperatur von 4° C in den Ansatz der Aorta infundiert. Gleichzeitig wurde das Herz mit kalter Kochsalzlösung (0,9% NaCl, 4° C) extern gekühlt.

Die V. cava inf. wurde proximal der Klemme durchtrennt, um den rechten Ventrikel von möglichem, zu hohem Druck zu entlasten. Die linksatriale Herzohrspitze oder die rechte obere Lungenvene wurde eingeschnitten, um den linken Ventrikel vom Druck zu entlasten. Der Perfusionsdruck der Kardioplegielösung in der Aorta sollte 70 mmHg nicht überschreiten. Während der Infusion wurde am Herz anfangs manuell kontrolliert, ob der linke Ventrikel entlastet ist. In der Regel wurde die Infusion der Kardioplegielösung innerhalb weniger Minuten beendet. Der OP-Bereich wurde vollständig ausgesaugt und die Sektion der Vv. pulmonales wurde komplettiert. Gelegentlich wurde eine komplette Herz-Lungenblock-Explantation mit anschließender Abpräparation der Lungen durchgeführt. Alternativ wurde die Aorta nahe der Klemme durchtrennt und der Truncus pulmonalis im Bifurkationsbereich abgetrennt. Die Herzspitze wurde dann angehoben, das mediastinale Gewebe an der Rückseite des Atriums und die großen Gefäße durchtrennt, so daß das Herz aus der Perikardhöhle herausgenommen werden konnte.

Kardioplegie-Lösung

In Anbetracht der potentiell schädlichen Wirkung hoher Kaliumkonzentrationen verbunden mit den Hinweisen, daß Substanzen wie Lactobionat und Raffinose wichtiger bei der Verzögerung der Zellödembildung als die Ionenzusammensetzung zu sein scheinen, wurden neue experimentelle und klinische Studien auf eine neuere extrazelluläre Lösungszusammensetzung mit dem Namen Celsiorlösung mit ähnlichen Zusätzen wie die UW Lösung ausgerichtet. Zusätzlich zu Laktobionat und Mannit enthält diese Lösung Glutamat als Substrat für die Energieproduktion und als ein mögliches Antioxidans. Glutamat kann die Bildung schädlicher Superoxidanionen von Sauerstoff vermindern, eine Reaktion, die von der zytoplasmatischen Bildung von NADH gefördert wird. Mit der Bereitstellung von

einem Übermaß an Glutamat wird der Malat-Aspartatweg aktiviert und erleichtert den Transport von zytoplasmatischem NADH in die Mitochondrien für die Oxidation (Berkowitz 1978). Andere Antioxidanzien in der Lösung schließen reduziertes Glutathion, Histidin und Mannit ein. Eine Kaliumüberlastung wird von einem hohen Magnesiumgehalt in Grenzen gehalten, sowie auch durch einen niedrigen ionisierten Kalziumgehalt und Erhaltung einer leichten Azidose (pH-Wert 7,3) durch Histidinpuffer. Die Natriumkonzentration ist etwa 100 mEq/l und Kalium etwa 15 mEq/l. Experimentelle Studien gehen davon aus (Menasche 1993, Petri 1994, Reigner 1995), dass die extrazelluläre Darreichungsform der UW-Lösung in seiner Wirksamkeit ähnlich ist. Diese Studien und die Befürchtung, auch bei anderen kaliumreicheren Lösungen im Xenotransplantationsmodell Probleme mit einer kaliumbedingten Bradykardie oder schrittmacherpflichtigen Asystolie nach Xenotransplantation zu bekommen, ließ die Celsior-Lösung als Standard für alle Versuche als am besten geeignet erscheinen. Um die optimale Kardioplegielösung jedoch für ein Xenotransplantationsmodell erstmalig zu testen und langfristig zu etablieren, wurden im Perfusionsmodell beide Lösungen hinsichtlich Hämodynamik und Abstoßungsverhalten in anderen Arbeiten getestet.

Präparation des Spenderherzens

Nach der Explantation wurde das Herz in eine Schüssel mit kalter Kochsalzlösung (0,9% NaCl, 4° C) gelegt, um es für die Implantation in den Empfänger zu präparieren. Die obere Hohlvenenligatur wurde übernäht. Das rechte Atrium wurde an der Öffnung der V. cava inf. postero-lateral eröffnet und die Inzision in Richtung des rechten Herzhohls gelegt, wobei unbedingt auf den Koronarsinus und den Sinusknoten geachtet werden mußte. Das Gewebe zwischen den Öffnungen der vier Vv. pulmonalis auf der Rückseite des linken Atriums wurde exzidiert, so daß eine große Öffnung entstand. Die Aorta und die Aa. pulmonales wurden nicht gestutzt, bis die atrialen Anastomosen fertiggestellt waren. Einfache Herzdefekte, wie ein offenes Foramen ovale, wurden behoben.

Kardiopulmonaler Bypass

Um während der Transplantationsoperation den Blutkreislauf aufrecht zu erhalten, wurde für die Zeit der Explantation des Empfängerherzens bis zur abgeschlossenen Implantation des Spenderherzens eine extrakorporale Zirkulation durchgeführt. Dazu wurden zwei großlumige venöse, und eine großlumige arterielle Kanüle in die Vv. Cava inf. et sup., und in die Aorta ascendens eingelegt. Hierzu wurde beim Empfänger eine mediane Sternotomie durchgeführt

und das Perikard longitudinal geöffnet. Es wurde ein A. pulmonalis-Katheter in die V. jugularis oder die V. cava sup. eingeführt, um das HZV mittels Pulmonalkatheter zu messen. Nach Vollheparinisierung (400 IE/kg) und Einführen der Kanülen in die distale Aorta ascendens und in die Vv. cava sup. et inf. über die laterale Wand des rechten Atriums, wurde der kardiopulmonale Bypass gestartet. Die Vv. cava sup. und inf. wurden mit Bändchen oder 1/0-Ligaturen umschlungen und später bei Übergang auf einen totalen Bypass zugezogen. Dabei wurde die Aorta proximal der Aortenkanüle abgeklemmt. Externe Kühlung verhinderte ein zu frühes Erwärmen des Spenderherzens in der Perikardhöhle des Empfängers.

Explantation des Herzens des Empfängers

Das Herz wurde explantiert, indem die rechte und linke Atriumwand nahe der atrio-ventrikulären Grenze und dem Atriumseptum durchtrennt wurden. Dabei wurde eine Manschette an der Atriumwand stehen gelassen, um ein Vernähen des Spenderherzens zu ermöglichen. Die Aorta und der Truncus pulmonalis wurden so nah wie möglich an den Klappen durchtrennt. Diese Gefäße sollten dann, bevor sie mit denen des Spenderherzens vernäht wurden, gestutzt werden.

Implantation des Spenderherzens.

Die Implantation des Herzens erfolgte nach der von Lower und Shumway angegebenen Technik:

Das Spenderherz wurde über der linken Seite des geteilten Sternums parallel zum zurückgebliebenen Rest des Empfängerherzens abgelegt. Die freien Wände des Spenderherzens und des linken Atriums des Empfängers liegen dann genau nebeneinander. Mit einer doppelt armierten 4/0 oder 5/0 Prolenenaht wurden die linken Atriumwände anastomosiert, indem eine durchgehende Naht, beginnend an der Basis des linken Herzohres des Spenderherzens und an einem Punkt nahe des kaudalen Endes der V. pulmonalis sup. sinistra des Empfängers gesetzt wurde. Nach mehreren Stichen wurde das Spenderherz in das Perikard hinabgeführt und die Naht angezogen. Die Naht wurde weiter an der oberen und unteren Wand des linken Atriums bis auf das atriale Septum fortgeführt und dann in der Mitte des Septums erneut angezogen und geknotet.

Es war sehr wichtig, die Temperatur des Myokards während der ischämischen Periode so niedrig wie möglich zu halten, optimal bei ca. 10° C. Die Spülung der Perikardhöhle wurde mit kalter Kochsalzlösung (0,9% NaCl, 4° C) durchgeführt.

Anschließend wurde das rechte Atrium mit einer doppelt endenden Naht (5/0 oder 6/0 Prolene) anastomosiert. Dazu wurde die Naht initial am Mittelpunkt des Spenderseptums angesetzt. Wegen des nur schmalen Randes des rechten Atriums, der in der Region der V. cava inf. des Empfängers zurückgeblieben war, wurde die Anastomose zunächst nach unten fortgesetzt. Die Anastomose nach oben wurde dann vervollständigt und die Enden der Naht am Mittelpunkt auf der freien Atriumwand angeklemt. Geknotet wurde erst nach der Entlüftung. Die zwei Aa. pulmonales wurden zurechtgestutzt und mit fortlaufender Naht (5/0 Prolene) anastomosiert. Auch die Aorta wurde zurechtgestutzt und mit einer fortlaufenden Naht (5/0 Prolene) anastomosiert.

Entlüftung und Beenden des kardiopulmonalen Bypass

30 Minuten vor Öffnen der Aortenklemme wurde dem Empfänger Prednisolon (25 mg/ kg) verabreicht. Zur Entlüftung wurde ein Needle-Vent in die Aorta asc. eingelegt. Zuvor wurden die Umschlingungen um die Vv. cava sup. et inf. gelockert, und das Herz leicht massiert, um vorhandene Luftblasen aus den Ventrikeln und den großen Gefäßen zu entfernen. Die Lungen wurden in dieser Zeit kurz gebläht, um den venösen Rückstrom zum linken Herzen zu vergrößern. Das führt dazu, daß mehr Luft aus dem Herzen befördert wird. Die Aortenklemme wurde geöffnet und die Koronararterien des Spenderherzens wieder mit oxygeniertem Blut perfundiert. Gleichzeitig mußte weiter versucht werden, evtl. vorhandene Luft aus den Ventrikeln abzusaugen, was über den Needle-Vent in der Aorta asc. ermöglicht wurde.

Sobald das Herz wiedererwärmt war, setzten kräftige ventrikuläre Fibrillation oder spontane koordinierte myokardiale Kontraktionen ein. Ab einer Körperkerntemperatur von mindestens 32°C wurde defibriert. Es mußte besonders darauf geachtet werden, daß das Herz dabei nicht mit Volumen überlastet wurde. Externe passagere ventrikuläre Schrittmacherelektroden wurden bedarfsweise angebracht, wenn im Falle eines Blockbildes oder Bradykardie das Herz stimuliert werden mußte. Wenn die Funktion des Myokards zufriedenstellend und die Wiedererwärmung auf mindestens 35°C abgeschlossen war, wurde der Needle-Vent entfernt. Die Kanüle in der V. cava sup. wurde in das rechte Atrium zurückgezogen und die Kanüle in der V. cava inf. entfernt. Der kardiopulmonale Bypass wurde langsam verringert. Jetzt wurde ein A. pulmonalis-Katheter in die V. jugularis oder V. cava sup. zur HZV-Messung über eine Schleuse eingeführt. Sobald die Auswurfleistung des Herzens zufriedenstellend war, wurden die Kanülen in der Aorta und in der V. cava sup. entfernt. Medikamente, die zur Regulation des Herzens notwendig sind, wurden verabreicht. Das zur Antikoagulation gegebene Heparin

wurde mit Protaminsulfat antagonisiert (im Verhältnis von 1,5 mg Protamin zu 1 mg zirkulierendem Heparin). Das ist erfahrungsgemäß eine Unterdosierung, eine weitere Gabe wurde von der ACT-Messung abhängig gemacht. Vor, während und nach der totalen extrakorporalen Zirkulation wurden folgende Medikamente eingesetzt: zur Regulierung des Blutdrucks: Arterenol, Dopamin, Nitroglycerin und Suprarenin; zur Gegensteuerung von Rhythmusstörungen: Atropin, Esmolol, Isoprel, Isoptin, Lanitop, Magnorbin und Lidocain; Veränderungen des Elektrolythaushaltes wurde mit Kalzium, Furosemid, Glucose, Insulin, Kaliumchlorid und Inzolen entgegengewirkt.

Es wurde eine Drainage eingelegt - in die Perikardhöhle vor dem Herzen retrosternal - die bei komplikationslosem Verlauf nach einstündiger Überwachung gezogen wurden. Im Falle einer Nachblutung wurde sofort zur Blutstillung rethorakotomiert. Der Thorax wurde schließlich mit starken Nähten (1 Ethibond) und Stahldrähten verschlossen. Das subkutane Gewebe wurde in zwei Schichten mit 3/0 Vicryl, und die Haut mit resorbierbaren 4/0 PDS genäht.

Technik der heterotopen Herztransplantation

Spenderoperation

Mit dem Unterschied, daß bei der heterotopen Transplantation das Spenderherz vom Schwein häufig als Herz/ Lungenblock entnommen wurde, entsprechen sich die Spenderoperationen bei der heterotopen bzw. der orthotopen Transplantation.

Präparation des Spenderherzens

Der Herz-Lungenblock wird in eine Schüssel mit kalter (4° C) NaCl 0,9%-Lösung gelegt. Die beiden Lungenhili werden ligiert und die beiden Lungenflügel entfernt. Um eine Shunt zwischen linkem Herzen und rechten Vorhof zu schaffen, wird durch Perforation mit einem Overhold ein artifizierlicher Atriumseptumdefekt geschaffen. Nach Ligatur der Vv. cavae wird die Aorta und Truncus pulmonalis den anatomischen Verhältnissen des Pavians angepaßt.

Implantation des Spenderherzens

Das Operationsfeld wird desinfiziert und steril abgedeckt. Nach medianer Laparotomie im Bereich der Linea alba werden vom mittleren Epigastrium bis oberhalb der Symphyse die abdominalen Organe mobilisiert, um einen Zugang zur infrarenalen Aorta und V. cava inf. zu erhalten. Diese Gefäße werden präpariert und mit Haltebändern versehen.

Nach Heparinisierung werden die Gefäße proximal und distal der geplanten Anastomosenstellen geklemmt. Die Aorta und die V. cava inf. werden longitudinal eröffnet, damit eine End-zu-Seitanastomose der Pulmonalarterie mit der V. cava inf. und der proximalen Aorta. mit der distalen Aorta des Spenderherzen ermöglicht wird. Es wird manchmal eine weitere Anastomose des rechten Atriums zur rechten V. iliaca com. angelegt, um die Drainage des rechten Vorhofs zu verbessern. Nachdem die Anastomosen komplett angelegt sind, werden die entsprechenden Gefäße entlüftet, die Nähte geknotet und mit Fibrinkleber (Tissuecol, Immuno AG) zusätzlich fixiert. Jetzt werden die Gefäßklemmen eröffnet und das Spenderherz reperfundiert. Die Reperfusionzeit wird aufgezeichnet. Eventuelle undichte Stellen an den Anastomosen werden mit Übernähten und Gewebekleber verschlossen. Nach entweder spontaner Konversion oder Defibrillation erfolgt die Gabe von Protamin.

Wenn der Chirurg mit der Funktion des xenogenen Transplantats zufrieden und adäquater Blutfluß hergestellt ist, werden die Abdomenwand mit Vicrylnaht (2/0) verschlossen und die Haut intrakutan genäht. Nach echokardiographischer Kontrolle der Transplantatfunktion läßt man das Tier im Inkubator aus der Narkose aufwachen. Unter ärztlicher Überwachung wird der Pavian wieder in seinen Stall zurückgebracht.

Immunadsorption

Um die hyperakute Abstoßungsreaktion beim Empfänger zu verhindern, wurde die Immunadsorption verwendet. Dabei wurden die präformierten Antikörper, die im Empfänger gegen das Transplantat vorhanden sind, aus dem Blut gefiltert. Die Immunadsorption mußte vor der Transplantation stattfinden, und beim perioperativen Management berücksichtigt werden.

Zu festgelegten Zeitpunkten präoperativ, intraoperativ und postoperativ (an den Tagen 3, 7, 14, danach 14-tägig) und bei drohenden bzw. gesicherten Abstoßungsereignissen (echokardiographisch, Labor-Parameter: Antipig-Antikörper, Komplementaktivität, Herzenzyme, EKG im Zusammenhang mit Immunsuppressiva-Spiegel), wurden über einen in die V. femoralis gelegten, zweilumigen Katheter mindestens zwei Zyklen einer Immunadsorption mit Ig-Therasorbsäulen mit der Gerätekonstellation des sog. ADA-Systems, der BM11- und EP12-Pumpe unter Narkosebedingungen (Ketamin, Azaperon) durchgeführt. Genaue Ausführungen dazu findet man in der Promotionsarbeit von Veronika Eder.

Blut-, Serum-, Abstoßungsdiagnostik und Überwachung der Immunsuppression

Blutuntersuchungen wurden täglich vorgenommen. Hierbei wurden die Blutentnahmen durch die gesetzliche Höchstgrenze (9% des Blutvolumens innerhalb von 30 Tagen) limitiert.

Hämatologische Untersuchungen

Hämoglobin, Leukozyten, Thrombozyten, Differentialblutbild: neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten.

Serumchemische Untersuchungen

Kreatinin, Natrium, Kalium, Kalzium, anorg. Phosphat, Chlorid, GPT/ ALAT, GOT/ ASAT, LDH, CK, Amylase.

Cyclosporin A-Spiegel

Cyclosporin A wurde unter Verwendung der Dünnschichtchromatographie im Vollblut bestimmt.

Mycofenolat Mofetil-Spiegel

Mycofenolat Mofetil wurde im Plasma mittels HPLC bestimmt.

Hämagglutinierende Anti-Schweineerythrozyten Antikörper im Serum

Hämagglutinierende Anti-Schweineerythrozyten Antikörper wurden sowohl zur Bestimmung der präformierten natürlichen Antikörper als auch zur Erfassung der nach der Transplantation induzierten Immunreaktion gegen das Spenderorgan gemessen. Hierzu wurde geronnenes Pavianblut für 5 Minuten mit 3000 U/min bei 4°C zentrifugiert und anschließend bei -70°C bis zur Bestimmung gelagert.

Histopathologische Untersuchungen der transplantierten Herzen

Nachdem der Tod des Empfängers eingetreten war, wurde das Transplantat entnommen. Biopsien aller vier Herzkammern wurden auf Korkscheiben in Gewebekleber (Tissuetec) eingebettet, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -75°C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert. Der Rest des Transplantats wurde in gepuffertem Formalin bis zur weiteren Verarbeitung konserviert.

Von den Biopsien wurden Gewebeschnitte angefertigt und nach Färbung mit Hämatoxylin/Eosin konventionell histologisch untersucht. Komplement- und Antikörperfärbungen zum Nachweis von C3, C4, C5b-9 und IgG wurden mit anti-humanen, monoklonalen Mausantikörpern, IgM mit einem monoklonalen anti-humanen Mausantikörper unter Verwendung der Avidin-Biotin-Komplexierungs-Methode durchgeführt. Genaue Ausführungen zur histopathologischen Untersuchung und Abstoßungsdiagnostik in der Promotionsarbeit von Cosmas Wimmer.

Immunsuppression

Folgende chemische Immunsuppressiva wurden verwendet:

Cyclosporin A

1) intramuskuläre Injektion

geschützter Name: Sandimmun Cyclosporin®

Hersteller: Sandoz Pharmaceutical

Konzentration: 100 mg/ml

2) orale Gabe

geschützter Name: Sandimmun Neoral®

Hersteller: Sandoz Pharmaceutical

Konzentration: 100 mg/ml

Cyclophosphamid

geschützter Name: Endoxan®
Hersteller: Asta Medica
Konzentration: 200 mg/vial

Mycophenolat

geschützter Name: Mycophenolat Mofetil bzw. ERL 080
Hersteller: Roche Products bzw. Novartis AG
Konzentration: 250 mg Kapsel bzw. 250 mg Kapsel

Methylprednisolon

geschützter Name: Urbason®
Hersteller: Upjohn
Konzentration: 40 mg/vial

Prednisolon

geschützter Name: Prednesol®
Hersteller: Glaxo
Konzentration: 5 mg Tablette

Alle Materialien wurden bei Raumtemperatur und in Dunkelheit gelagert.

Cyclosporin A wurde initial als i.m.-Injektion (Sandimmun Cyclosporin, 100 mg/ml) mit einer Dosis von 25 mg/kg/Tag verabreicht. Die Tiere erhielten diese Dosis an Tag 0 nach erfolgreich abgeschlossener Operation. An Tag 1 wurde CyA morgens als i.m.-Injektion mit einer Dosis von 20 mg/kg, am Nachmittag oral mit einer Dosis von 100 mg/kg verabreicht. Danach wurde die Dosis in Anpassung an den allmorgendlichen Blutspiegel von Cyclosporin A eingestellt. Ziel war es, den Blutspiegel im Mittelwert immer um 150 - 200 ng/ml einzustellen.

Cyclophosphamid wurde als i.v.-Injektion an Tag -1 mit einer Dosis von 40 mg/kg, an Tag 0 mit einer Dosis von 20 mg/kg und an Tag 2 mit einer Dosis von 10 bis 20 mg/kg verabreicht. Beginnend an Tag 3 wurde Cyclophosphamid oral mit Hilfe einer Ernährungssonde in festgelegter Dosis verabreicht. Die Dosierung des Cyclophosphamids wurde von der Leukozyten- und Thrombozytenzahl und des im Blut bestehenden Antipig-Antikörperspiegels abhängig gemacht.

Mycophenolat wurde oral mit einer Dosis von 70 mg/kg/Tag beginnend an Tag -1 verabreicht. Die zweite Dosis an Tag 0 wurde nicht gegeben, bevor die 12 Stunden-Blutergebnisse bekannt waren (siehe Blutproben). Ab Tag 1 wurde die Dosierung und die Häufigkeit (bis zu 2 mal täglich) der Mycophenolat-Gaben neu festgelegt.

Steroide: Methylprednisolon wurde zum Zeitpunkt der Transplantation als i.v.-Injektion mit einer Dosierung von 1 mg/kg verabreicht. An Tag 1 und 2 wurde Prednisolon mit derselben Dosierung oral gegeben, danach wurde die Dosis um 0,05 mg/kg/Tag erniedrigt, bis eine Dosis von 0,2 mg/kg erreicht war. Diese Dosierung wurde dann beibehalten.

Vorbereitung der zu testenden Substanzen

Die immunsuppressiven Medikamente wurden zur Verwendung wie folgt vorbereitet:

Cyclosporin A

Da der Stoff gebrauchsfertig geliefert wurde, waren keine speziellen Vorbereitungen notwendig.

Cyclophosphamid (Endoxan)

Dieser Stoff wurde als Pulver in Fläschchenform geliefert. Jedes Fläschchen wurde mit sterilem Wasser laut Herstellerangaben (10 ml Wasser pro 200 mg Pulver) gefüllt.

Mycophenolat (Mofetil oder ERL 080)

Der Stoff wurde als Kapsel zu jeweils 250 mg geliefert. Vor dem Gebrauch wurden die Kapseln geleert und der Inhalt abgewogen. Dies war zum Erstellen eines Korrekturfaktors wichtig, der die Zumischung von Konservierungsmitteln und Stabilisatoren berücksichtigte.

Mycophenolat wurde in einer Konzentration von 100 mg/ml zu einer Suspension mit 1%iger Methylcellulose gemischt.

Methylprednisolon (Urbason)

Der Stoff wurde als Pulver in Dosierungsfläschchen geliefert. Jedes Fläschchen mit 40 mg wurde mit 2 ml sterilem Wasser angesetzt.

Prednisolon (Prednesol)

Der Stoff wurde als wasserlösliche Tablette (5 mg) geliefert. Die Tabletten wurden in einer angemessenen Menge sterilem Wasser gelöst, und in einem sterilen Dosierungsbehälter aufbewahrt.

Wenn nötig, wurden Cyclophosphamid, Mycophenolat Mofetil, Methylprednisolon und Prednisolon jeden Morgen oder Nachmittag frisch angesetzt und am Ende des Tages verworfen.

Verabreichung der Testsubstanzen

Die Tiere wurden, soweit möglich, jeden Tag zu genau derselben Zeit behandelt. Individuelle Dosierungen wurden nach den aktuellen Angaben zum Körpergewicht gerichtet. Die benötigten Mengen an Lösungen wurden in sterilen, skalierten Plastikspritzen abgefüllt.

Für eine orale Behandlung wurden die Medikamente durch einen Plastikkatheter (Nelaton-Katheter, 14 CH), der über den Mund in den Magen gelegt wurde, verabreicht. Der Katheter wurde mit einer geringen Menge (ca. 10 ml) einer sehr kohlenhydratreichen, aber elektrolytarmen, zähflüssigen Trinklösung vorgespült.

Für die i.v.-Gabe wurde ein Katheterset benutzt, mit dem die V. saphena parva oder V. cephalica punktiert wurde.

Für die i.m.-Injektion wurde eine geeignete, dünne Nadel benützt. Das Tier erhielt Injektionen in den enthaarten Oberschenkel oder Gluteusbereich. Die Enthaarung erfolgte aus Gründen der Nachsorge und um lokale Reaktionen auf die Injektion zu beobachten.

Die i.v.-Injektion von Steroiden am Tag der Transplantation wurde während der OP durchgeführt. Die Dosis wurde über eine Kanüle verabreicht, die in einer peripheren Vene (z.B. V. saphena parva) lag.

Futter wurde den Tieren genau eine Stunde nach der Morgenbehandlung angeboten.

Änderungen der Behandlung oder der Dosierung

Änderungen, die die Dosis nach Beginn der Behandlung betrafen, und die auf Ergebnissen der Laboruntersuchungen beruhten (z.B. CyA-Blutspiegel, Leukozytenzahl, Antipig-Antikörperspiegel, etc.), und als notwendig für das klinische Management der einzelnen Tiere angesehen wurden, wurden in Rücksprache mit dem Studienleiter festgelegt.

Stichprobenerfassung

Die aufgeführten Medikamente dienen dazu, die Abstoßung transplantierte, transgener Organe zu verhindern. Mit Ausnahme von Sandimmun Cyclosporin® und Sandimmun Neoral® sind alle verwendeten Stoffe lizenzierte pharmazeutische Produkte.

Empfohlener Dosierungsplan bis zum 28. Tag:

Cyclosporin A (CyA):

Von Tag 0 bis Versuchsende, am Tag 0: 25 mg/kg i.m., Tag 1: 20 mg/kg i.m. oder 100 mg/kg p.o., danach täglich nach Spiegel (ca. 1500 ng/ml).

Cyclophosphamid (CyP):

An Tag -1: 40 mg/kg i.v., Tag 0: 20 mg/kg i.v., Tag 2: 10 - 20 mg/kg i.v., danach je nach Leukozyten- und Thrombozytenspiegel (auch in geringen Einzeldosen).

Steroide (MPS oder PDN):

Von Tag 0 bis Versuchsende. Tag 0: 1,0 mg/kg i.v., Tag 1 und Tag 2: 1,0 mg/kg p.o., ab Tag 3 bis Tag 18: Reduktion der Dosis um 5mg/kg auf 0,20 mg/kg p.o. (Tag 3: 0,95 mg/kg p.o. usw.).

Mycophenolat (MMF oder ERL):

Von Tag -1 und bis Versuchsende. Tag -1 und 0: 70 mg/kg p.o. 2 mal täglich, danach täglich nach Spiegel.

Statistik

Die statistischen Auswertungen wurden für die quantitativen Variablen mit dem zweiseitigen t-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich von Untergruppen durchgeführt. Die Ergebnisse wurden als Mittelwert +/- Standard error of the mean dargestellt. Es wurde keine Normalverteilung innerhalb der Gruppen angenommen. Qualitative Merkmale wurden mit dem χ^2 -Test verglichen. Das Signifikanzniveau wurde wiederum bei $p < 0,05$ angesetzt.

Abstoßkrisen und deren Therapie

- 3 Tage Bolustherapie mit 15 mg/kg Methylprednisolon i.v.
und/ oder
- Cyclophosphamid 20 mg/kg i.v.
und/ oder
- Immunadsorption:

Induzierte Anti-Schwein-Antikörper-Anstiege im Serum wurden mit IgTherasorb-Adsorptionssäulen behandelt.

Einschläfern der Tiere

Jedes Tier wurde mit Ketaminhydrochlorid i.m. (Ketanest) zuerst narkotisiert. Dann wurde das Tier mit einer tödlichen Dosis von Pheobarbital (Luminal, 200 mg/ml) eingeschläfert und anschließend ausgeblutet.

Sofort nach dem Ausbluten wurde das Xenotransplantat mit seinen gebildeten Anastomosen vorsichtig entnommen und gewogen. Aus jeder Wand der vier Kammern wurde ein kleines Stück Gewebe entnommen und auf einer Korkplatte befestigt, mit Gewebekleber bedeckt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Jede einzelne dieser entnommenen Gewebeprobe wurde in Folie gewickelt und tiefgefroren. Vier dieser Gewebeprobe wurden für die Elektronenmikroskopie zurückbehalten. Weitere Proben wurden Formalin-fixiert.

Virologie

Von allen Tieren, die einer Transplantation unterzogen wurden, wurden Gewebeprobe­nen aus folgenden Organen entnommen: transplantiertes Herz, Gefäß­anastomosen, Niere, Lunge, Leber, Ovarien oder Hoden, Pankreas, Gehirn, Ileum, mittleres Kolon, Milz, Magen-Darm-Trakt, Magen, mesenteriale Lymphknoten, retroperitoneale Lymphknoten, Serum (zur späteren Zellseparation), Blut, Sternum. Alle Proben wurden in flüssigem Stickstoff eingefroren (ca. -70°C), bevor sie an den Virologen geliefert wurden.

Ergebnisse

Ergebnisse der Versuchsgruppen

Gruppe A

Basisdaten

Heterotope Herztransplantation von genetisch unveränderten Schweineherzen mit Immunadsorption. Bei einer Transplantation der Gruppe (Pav 7) wurde keine Immunadsorption durchgeführt.

Versuch	Pav 3	Pav 5	Pav 7	Pav 8	Pav 13	MW
Art des Vers	het LR xHTX ADA	het LR xHTX ADA	het LR xHTX	het LR xHTX ADA	het LR xHTX ADA	
Geschl. (1m/0w)	1	1	1	0	0	
Gewicht Affe (g)	20000	10500	17500	18500	20100	17320
Gewicht Schwein (g)	5000	4000	4900	5200	4900	4800
Spender-Empfänger-Rel (%)	25,00	38,10	28,00	28,11	24,38	28,71

Tab. 4: Basisdaten der Gruppe A

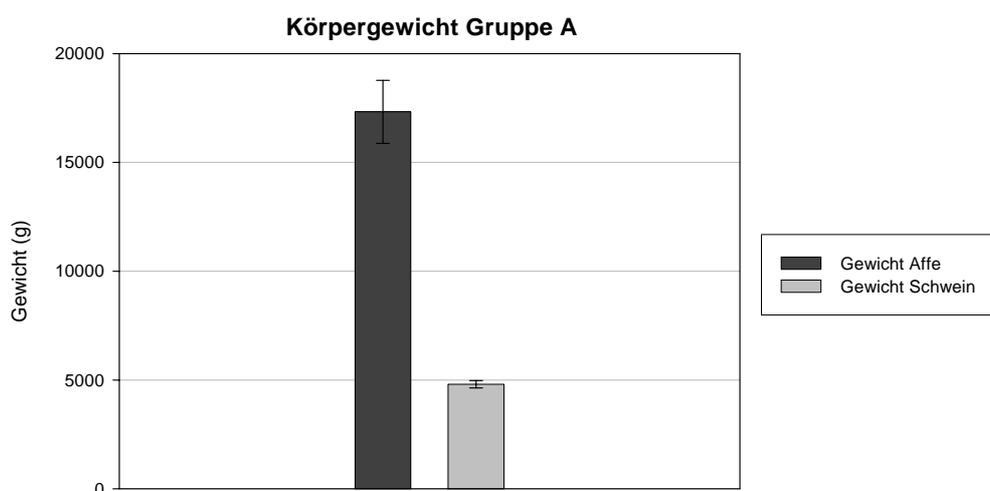


Abb. 2: Körpergewicht - Mittelwerte – in Gruppe A

Die Gruppe besteht aus 5 Pavianen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 17,32 kg \pm 3,96 kg (10,5 – 20,1 kg), davon 3 männliche und 2 weibliche. Die Landrasse-Schweine hatten ein durchschnittliches Körpergewicht von 4,8 kg \pm 0,169kg (4,0 – 5,2 kg). Die Spender-Empfänger-Relation betrug durchschnittlich 28,71 % \pm 2,47 % (25,0 – 38,1 %).

Operationsdaten, Transplantatdaten und Überlebenszeit

Versuch	Pav 3	Pav 5	Pav 7	Pav 8	Pav 13	MW
Art des Versuchs	het LR xHTX ADA	het LR xHTX ADA	het LR xHTX	het LR xHTX ADA	het LR xHTX ADA	
Empfängerherz Gewicht (g)	93,4	62,7	86,7	92,0	97,5	86,46
Graftgew. vorher (g)	40,0	34,4	28,6	32,8	31	33,35
Graftgew. nachher (g)	96,5		34,4	55,0	77,8	65,925
Graft zu Explant. (%)	42,83	54,86	32,93	35,65	31,79	39,61
Ischämie (h)	2:09	3:50	1:13	2:22	1:14	2:09
Aortenklemmzeit (h)	0:15	0:30	0:25	0:25	0:17	0:22
Transplantat- überleben (h)	272:15	5:30	11:30	0:55	364:33	130:56
in Tagen	11d 8h 15m	< 1d	< 1d	< 1d	15d 4h 33s	
terminiert (1J /0N)	0	0	0	0	1	

Tab. 5: Operationsdaten, Transplantatdaten, Überlebenszeit der Gruppe A

Überlebenszeit Gruppe A

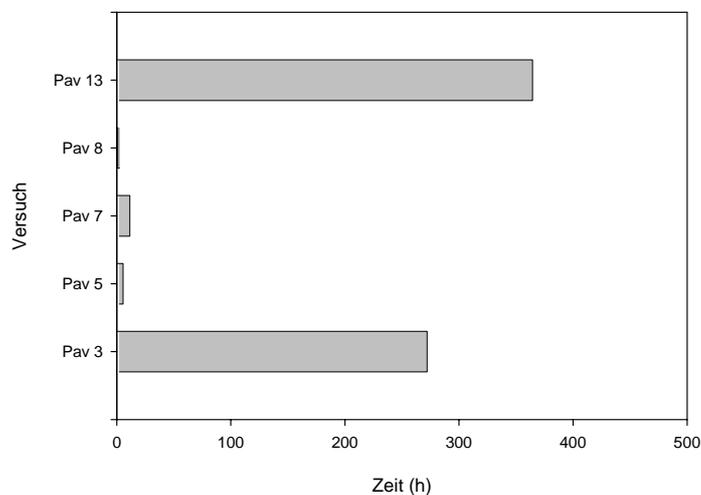


Abb. 3: Überlebenszeit in Gruppe A

Die durchschnittliche Überlebenszeit des Transplantats lag bei 130h 56min \pm 174h 14min (0h 55min – 364h 33min) (~ 6 Tage). Dabei wurde bei Pav 13 aus veterinärmedizinischen Gründen der Versuch terminiert.

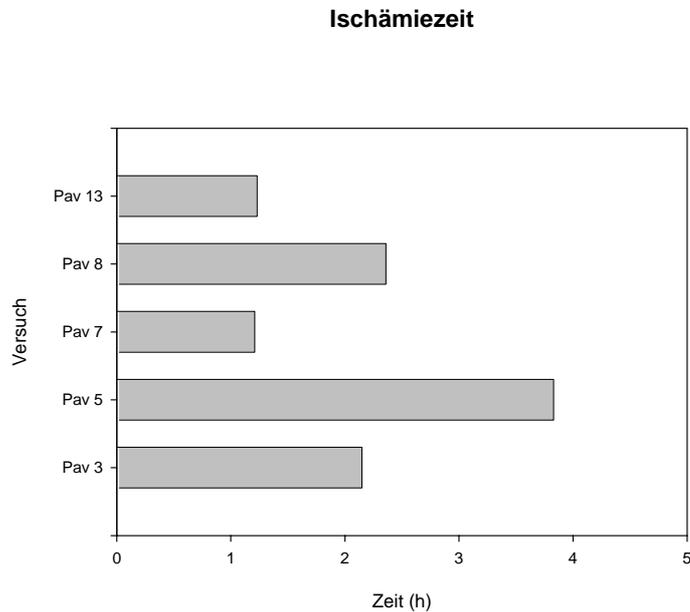


Abb. 4: Ischämiezeit des Xenotransplantats in Gruppe A

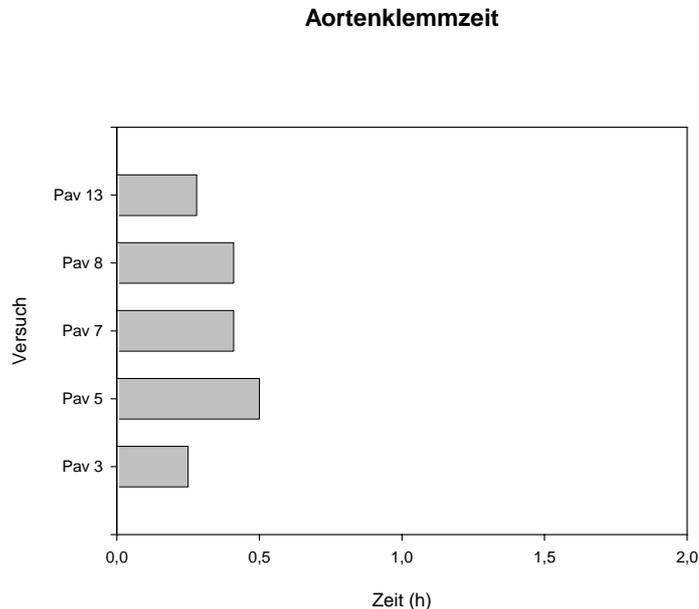


Abb. 5: Aortenklemmzeit bei der hXHTX in Gruppe A

Die durchschnittliche Ischämiezeit lag bei 2h 09min \pm 1h 04min (1h 14min – 3h 50 min), bei einer durchschnittlichen Aortenklemmzeit von 0h 22min \pm 0h 6min (0h 15min – 0h 30min).

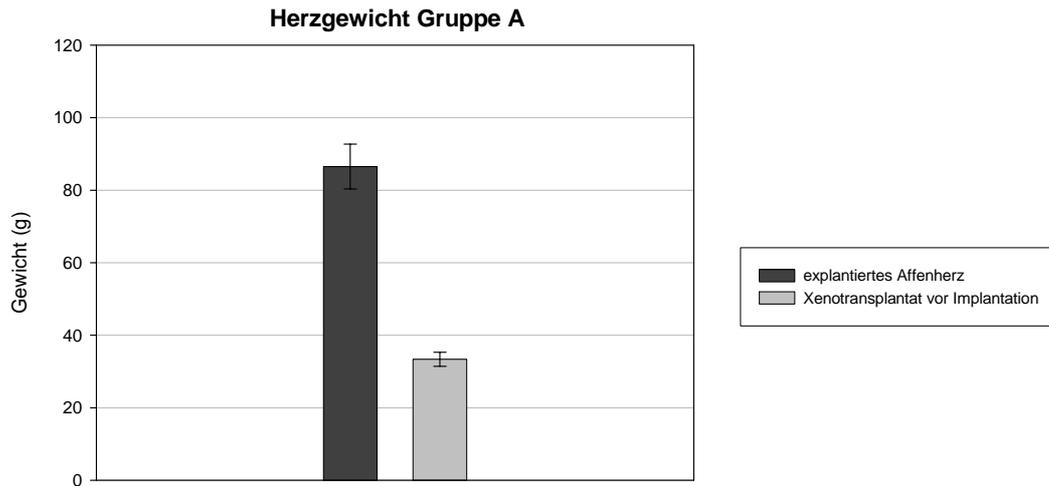


Abb. 6: Transplantatgewicht in Gruppe A

Die aus den Affen explantierten Herzen hatten ein durchschnittliches Gewicht von $86,46 \text{ g} \pm 6,19 \text{ g}$ ($62,7 - 97,5 \text{ g}$), die implantierten Schweineherzen hatten bei Implantation ein durchschnittliches Gewicht von $33,35 \text{ g} \pm 1,93 \text{ g}$ ($28,6 - 40,0 \text{ g}$). Das ergibt ein durchschnittliches Verhältnis von implantiertem Affenherz zu explantiertem Schweineherz von $39,61 \% \pm 4,27 \%$ ($31,79 - 54,86 \%$).

Besonderheiten bei der körperlichen Untersuchung und im EKG

In der Gruppe A ergaben sich bei der körperlichen Untersuchung oder im EKG außer bei PAV 13 keine Auffälligkeiten.

PAV 13

Tag	2	3	4	5	6	8	13
Gewicht (kg)	20	19,5	19,5	20	19,6	19,5	
Herz							S: 4/6 Systolikum
Lunge							
Abdomen	DG spärlich	DG keine, Diarrhoe	Keine Diarrhoe	DG spärlich	Leichte Diarrhoe	DG spärlich, Diarrhoe	Petechien
OP-Wunde							
Empfänger-EKG							
Transplantat-EKG							

Tab. 6: Besonderheiten körperliche Untersuchung und EKG von PAV 13

Blutuntersuchungen

Die Blutuntersuchungen wurden zu folgenden Zeiten abgenommen: am Tag -1, am Tag 0, nach Durchführung der Immunadsorption (n. ADA), 30, 90 und 180 Minuten nach Beginn der Operation, und einmal an jedem postoperativen Tag.

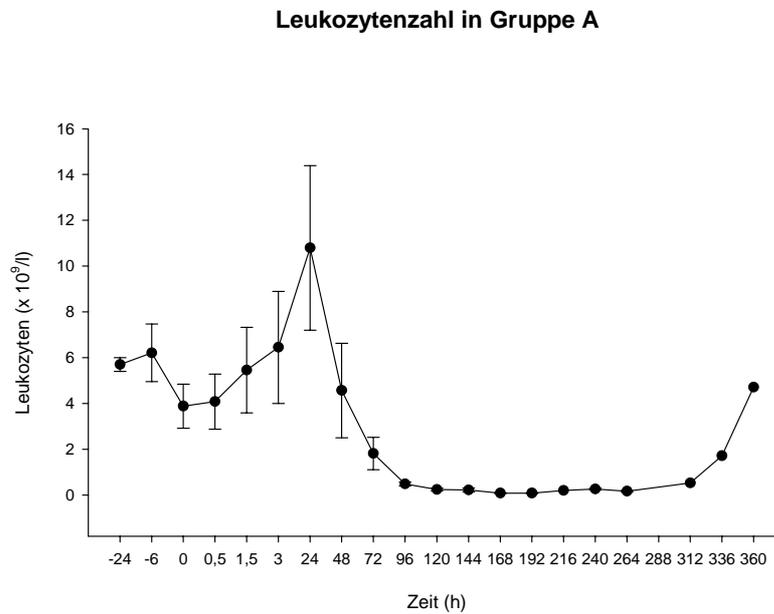


Abb. 7: Leukozytenzahl - Mittelwerte - der Gruppe A im Verlauf

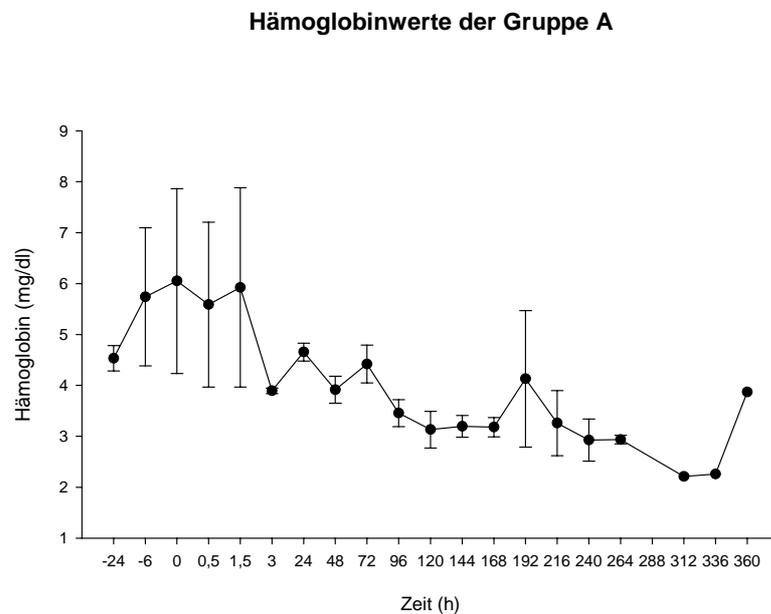


Abb. 8: Hämoglobinwerte - Mittelwerte - der Gruppe A im Verlauf

Thrombozytenzahl in Gruppe A

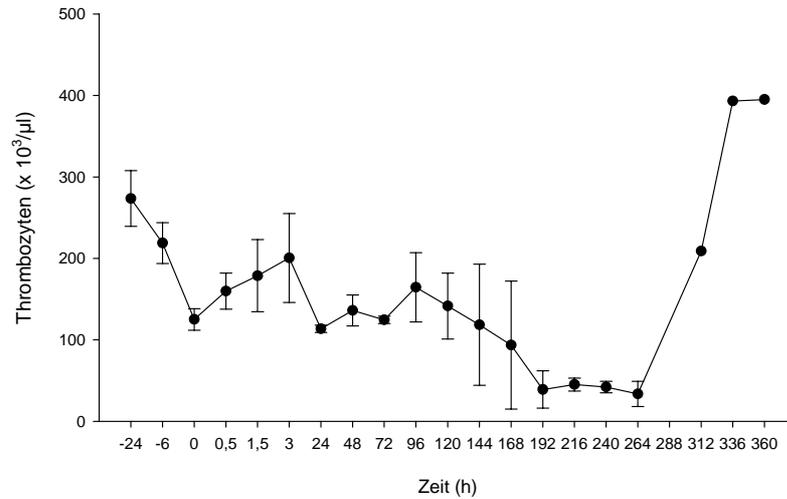


Abb. 9: Thrombozytenzahl - Mittelwerte - der Gruppe A im Verlauf

Immunadsorption

Antipig-Antikörper Gruppe A

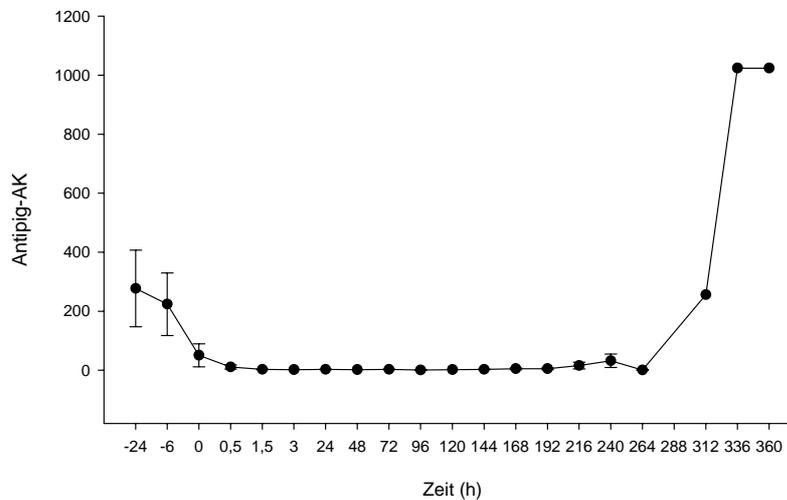


Abb. 9: Antipig-Antikörper-Titer - Mittelwerte - der Gruppe A

Der Ausgangstiter der Antipig-Antikörper betrug in der Gruppe A durchschnittlich $277,33 \pm 129,77$ (64 – 512), und wurde nach Durchführung der Immunadsorption auf durchschnittlich $50,67 \pm 38,74$ (8 – 128) gesenkt.

Es wurden jeweils 4 Zyklen der Immunadsorption durchgeführt, ausgenommen des Versuchs Pav 7 (keine Immunadsorption) und des Versuchs Pav 13 (12 Zyklen).

Gruppe B

Basisdaten

In Gruppe B wurden Herzen aus gentechnisch veränderten Schweinen heterotop transplantiert. Die Zellen dieser Organe exprimierten hDAF. Zusätzlich wurde perioperativ eine Immunadsorption durchgeführt.

Versuch	Pav 14	Pav 18	Pav 19	Pav 21	MW
Art des Versuchs	het hDAF xHTX ADA	het hDAF xHTX ADA	het hDAF xHTX ADA	het hDAF xHTX ADA	
Geschl. (1m/0w)	1	0	0	0	
Gewicht Affe (g)	25100	14500	14800	25800	20050
Gewicht Schwein (g)	9200	5800	3600	6000	6150
Spender-Empfänger-Rel (%)	36,65	40	24,32	30	32,74

Tab. 7: Basisdaten der Gruppe B

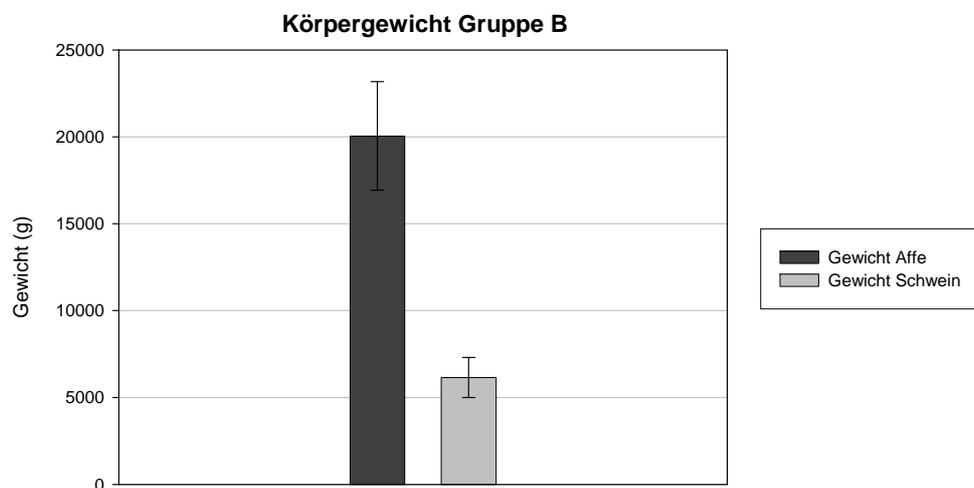


Abb. 11: Körpergewicht - Mittelwerte – in Gruppe B

Die Gruppe besteht aus 4 Pavianen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 18,6 kg \pm 2,5 kg (14,5 – 25,1 kg), davon war ein Pavian männlich, drei weiblich. Die transgenen Schweine hatten ein durchschnittliches Körpergewicht von 6,15 kg \pm 1,2 kg (3,6 – 9,2 kg). Die Spender-Empfänger-Relation betrug durchschnittlich 32,74 % \pm 3,12 % (24,32 – 36,65 %).

Operationsdaten, Transplantatdaten und Überlebenszeit

Versuch	Pav 14	Pav 18	Pav 19	Pav 21	MW
Art des Versuchs	het hDAF xHTX ADA	het hDAF xHTX ADA	het hDAF xHTX ADA	het hDAF xHTX ADA	
Empfängerherz Gewicht (g)	119,8	68,7	68,0	101,0	89,375
Graftgew. vorher (g)	57,4	34,4	27,1	42,2	40,275
Graftgew. nachher (g)	136,0	50,7	42,1	85,7	78,625
Graft zu Explant. (%)	47,91	50,07	39,85	41,78	44,90
Ischämie (h)	4:28	2:55	1:46	2:36	2:56
Aortenklemmzeit (h)	0:36	1:09	0:20	0:52	0:44
Transplantat- überleben (h)	148:36	74:57	192:30	57:20	118:20
in Tagen	6d 4h 36m	3d 2h 57m	8d 0h 30m	2d 9h 20m	
terminiert (1J /0N)	1	1	1	0	

Tab. 8: Operationsdaten, Transplantatdaten, Überlebenszeit Gruppe B

Überlebenszeit der Gruppe B

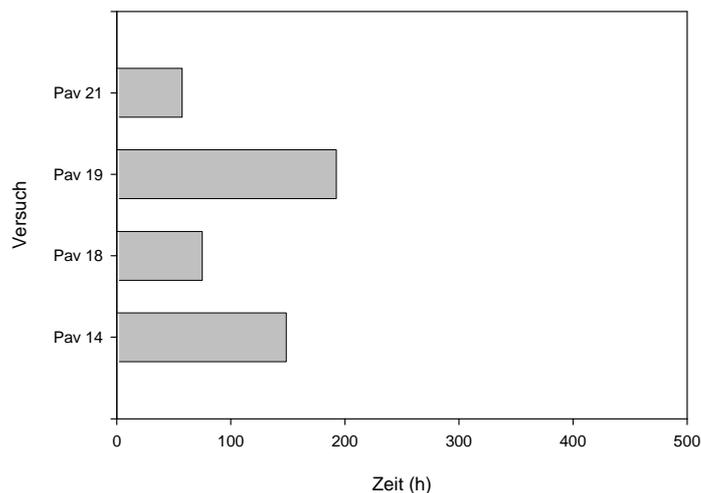


Abb. 12: Überlebenszeit in Gruppe B

Die durchschnittliche Transplantat-Überlebenszeit in Gruppe B lag bei 118h 20min \pm 28h 18min (57h 20min – 192h 30min) (~ 5 Tage).

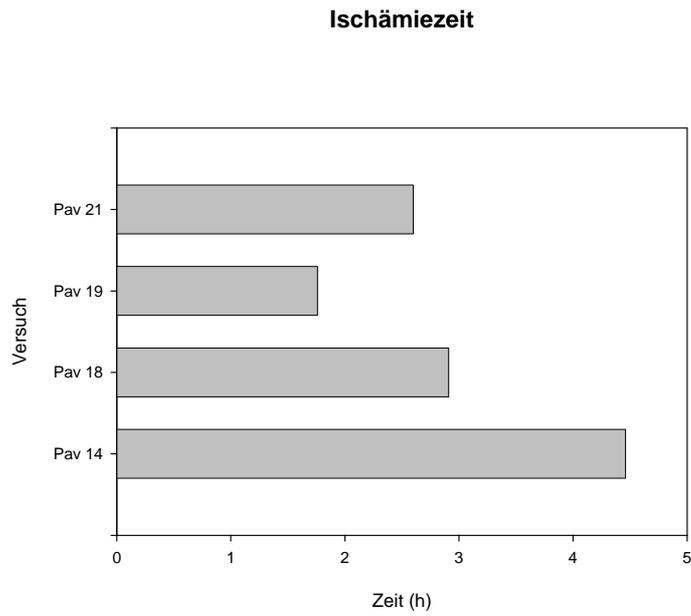


Abb. 13: Ischämiezeit des Xenotransplantats in Gruppe B

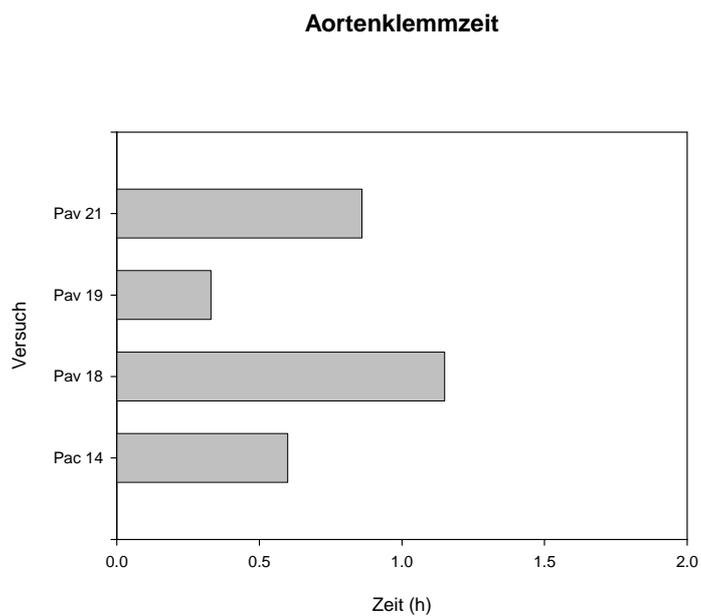


Abb. 14: Aortenklemmzeit bei der hXHTX hDAF in Gruppe B

Die durchschnittliche Ischämiezeit der Gruppe B lag bei $2\text{h } 56\text{min} \pm 0\text{h } 33\text{min}$ ($1\text{h } 46\text{min} - 4\text{h } 28\text{min}$), bei einer durchschnittlichen Aortenklemmzeit von $0\text{h } 44\text{min} \pm 0\text{h } 52\text{min}$ ($0\text{h } 20\text{min} - 1\text{h } 09\text{min}$).

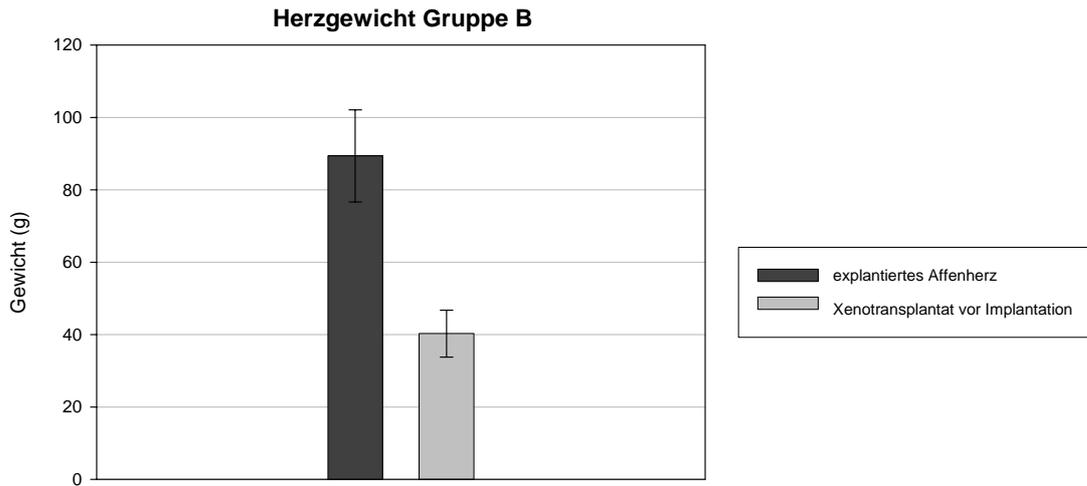


Abb. 15: Herzgewicht - Mittelwerte - in Gruppe B

Die aus den Affen explantierten Herzen der Gruppe B hatten ein durchschnittliches Gewicht von $89,38 \text{ g} \pm 12,73 \text{ g}$ ($68,0 - 119,8 \text{ g}$), die implantierten Schweineherzen hatten bei Implantation ein durchschnittliches Gewicht von $40,28 \text{ g} \pm 6,49 \text{ g}$ ($27,1 - 57,4 \text{ g}$). Das ergibt ein durchschnittliches Verhältnis von implantiertem Affenherz zu explantiertem Schweineherz von $44,9 \% \pm 2,18 \%$ ($39,85 - 50,07 \%$).

Besonderheiten bei der körperlichen Untersuchung und im EKG

PAV 14

Tag	1	2	4
Gewicht (kg)	25,3	26	25,5
Herz			
Lunge			
Abdomen	DG spärlich	Keine DG, kein Stuhlgang	DG spärlich
OP-Wunde			
Empfänger-EKG			
Transplantat-EKG			

Tab. 9: Besonderheiten körperliche Untersuchung und EKG von PAV 14

PAV 18

Tag	1	2
Gewicht (kg)	14,1	14,0
Herz		
Lunge		
Abdomen		Menstruation
OP-Wunde		
Empfänger-EKG		
Transplantat-EKG	ST-Senkungen	

Tab.10: Besonderheiten körperliche Untersuchung und EKG von PAV 18

PAV 19

Tag	0
Gewicht (kg)	14,8
Herz	
Lunge	
Abdomen	Erbrechen, Diarrhoe
OP-Wunde	
Empfänger-EKG	
Transplantat-EKG	

Tab. 11: Besonderheiten körperliche Untersuchung und EKG von PAV 19

PAV 21

Tag	0
Gewicht (kg)	20
Herz	
Lunge	
Abdomen	Erbrechen
OP-Wunde	
Empfänger-EKG	
Transplantat-EKG	

Tab. 12: Besonderheiten körperliche Untersuchung und EKG von PAV 21

Blutuntersuchungen

Die Blutuntersuchungen wurden zu folgenden Zeiten abgenommen: am Tag -1, am Tag 0, nach Durchführung der Immunadsorption (n. ADA), 30, 90 und 180 Minuten nach Beginn der Operation, und einmal an jedem postoperativen Tag.

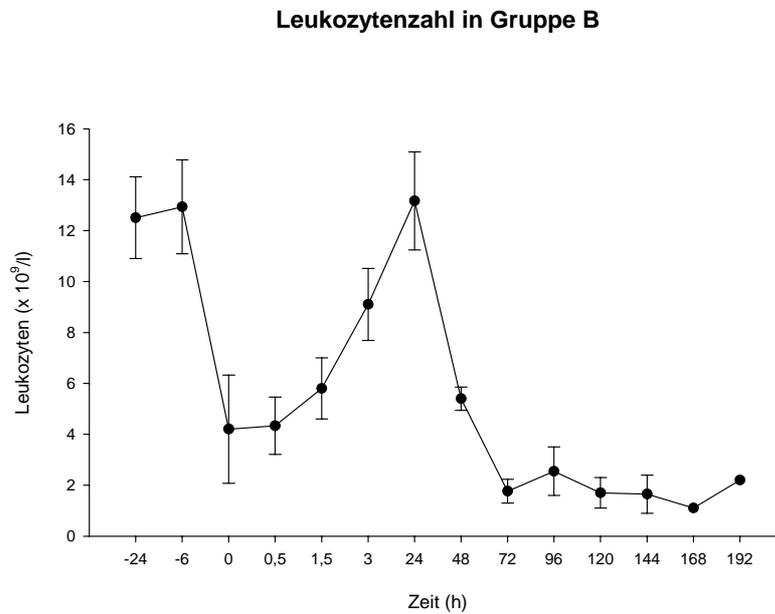


Abb. 16: Leukozytenzahl - Mittelwerte - der Gruppe B im Verlauf

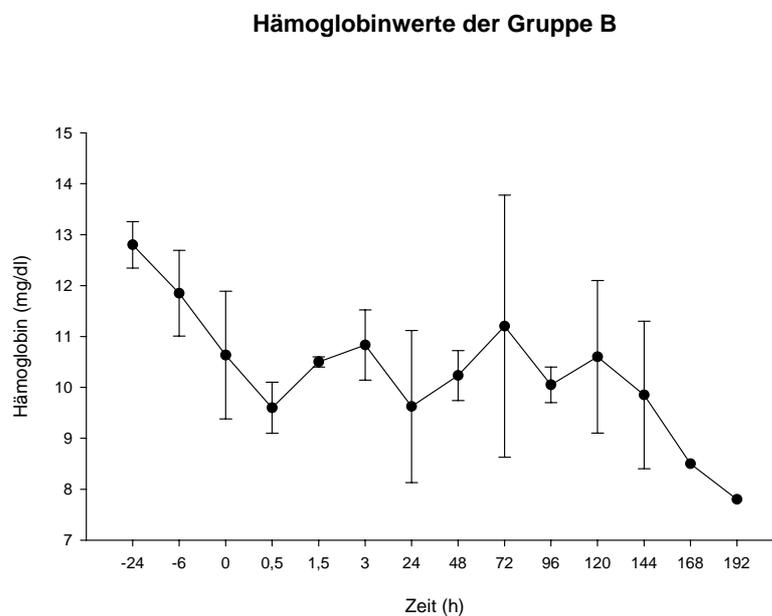


Abb. 17: Hämoglobinwerte - Mittelwerte - der Gruppe B im Verlauf

Thrombozytenzahl in Gruppe B

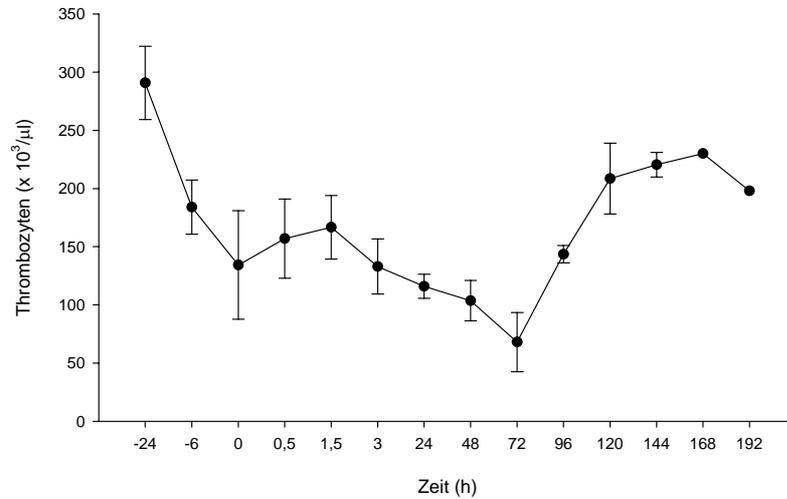


Abb. 18: Thrombozytenzahl - Mittelwerte - der Gruppe B im Verlauf

Immunadsorption

Antipig-Antikörper Gruppe B

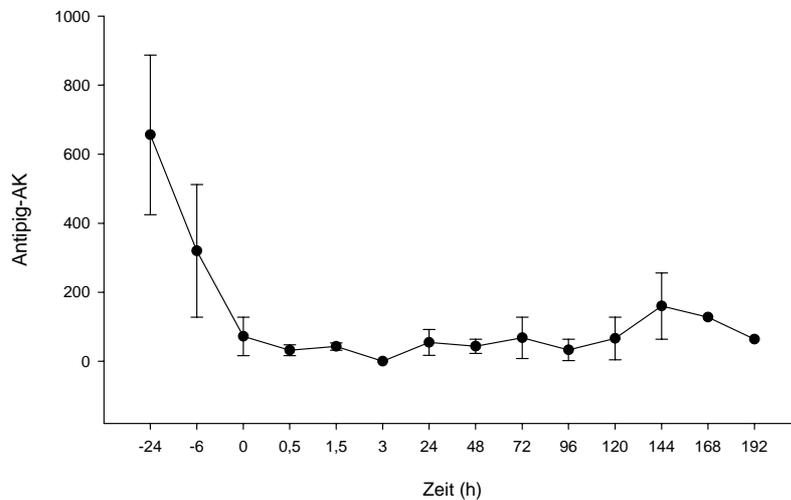


Abb. 19: Antipig-Antikörper-Titer - Mittelwerte - der Gruppe B

Der Ausgangswert der Antipig-Antikörper betrug in der Gruppe B durchschnittlich $656 \pm 231,31 \pm 231,31$ (64 – 1024), und wurde nach Durchführung der Immunadsorption auf durchschnittlich 72 ± 56 (16 – 128) (nach 8 Tagen) gesenkt.

Es wurden durchschnittlich 10 Zyklen Immunadsorption durchgeführt (14 bei PAV 14, 10 bei PAV 18, 6 bei PAV 19, 10 bei PAV 21).

Gruppe C

In Gruppe C wurden Herzen aus Landrasseschweinen ohne gentechnische Veränderungen orthotop transplantiert. Zusätzlich wurde perioperativ Immunadsorption durchgeführt.

Versuch	Pav 9	Pav 10	Pav 11	Pav 12	MW
Art des Vers	ort LR xHTX ADA	ort LR xHTX ADA	ort LR xHTX ADA	ort LR xHTX ADA	
Geschl. (1m/0w)	0	0	0	0	
Gewicht Affe (g)	20000	19000	20500	20400	19975
Gewicht Schwein (g)	12500	14000	16000	14800	14325
Spender-Empfänger-Rel (%)	62,50	73,68	78,05	72,55	71,70

Tab. 13: Basisdaten Gruppe C

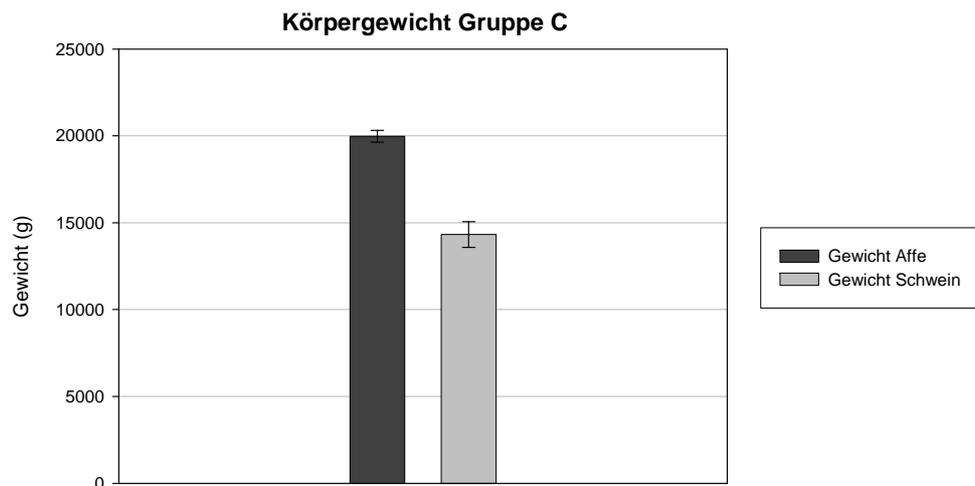


Abb. 20: Körpergewicht - Mittelwerte - in Gruppe C

Die Gruppe besteht aus 4 weiblichen Pavianen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von $19,98 \text{ kg} \pm 0,34 \text{ kg}$ (19,00 – 20,50 kg). Die Landrasseschweine hatten ein durchschnittliches Körpergewicht von $14,33 \text{ kg} \pm 0,73 \text{ kg}$ (12,50 – 16,00 kg). Die Spender-Empfänger-Relation betrug durchschnittlich $71,70 \% \pm 2,94 \%$ (62,50 – 78,55 %).

Operationsdaten, Transplantatdaten und Überlebenszeit

Versuch	Pav 9	Pav 10	Pav 11	Pav 12	MW
Art des Versuchs	ort LR xHTX ADA	ort LR xHTX ADA	ort LR xHTX ADA	ort LR xHTX ADA	
Empfängerherz Gewicht (g)	88,0	80,5	91,7	83,6	85,95
Graftgew. vorher (g)	75,5	75,0	77,3	82,2	77,5
Graftgew. nachher (g)	105,9	106,5	93,9	97,7	100,99
Graft zu Explant. (%)	85,80	93,17	84,30	98,33	90,39
Ischämie (h)	3:10	2:54	1:55	2:08	2:31
Aortenklemmzeit (h)	1:32	1:52	1:19	1:37	1:35
Transplantat- überleben (h)	24:40	5:34	28:51	23:19	20:36
in Tagen	1d 0h 40m	< 1d	1d 4h 51m	< 1d	
terminiert (1J /0N)	0	0	0	1	

Tab. 14: Operationsdaten, Transplantatdaten, Überlebenszeit Gruppe C

Überlebenszeit der Gruppe C

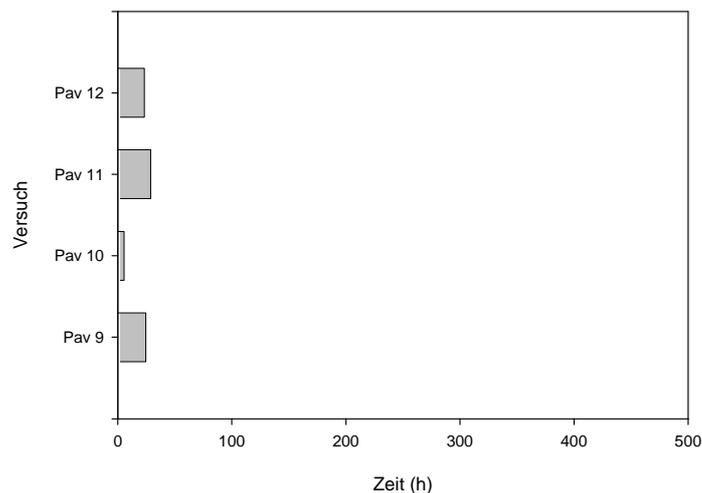


Abb. 21: Überlebenszeit in Gruppe C

Die durchschnittliche Transplantat-Überlebenszeit in Gruppe C lag bei 20h 36min \pm 4h 36min (5h 34min – 28h 51min) (~ 1 Tag).

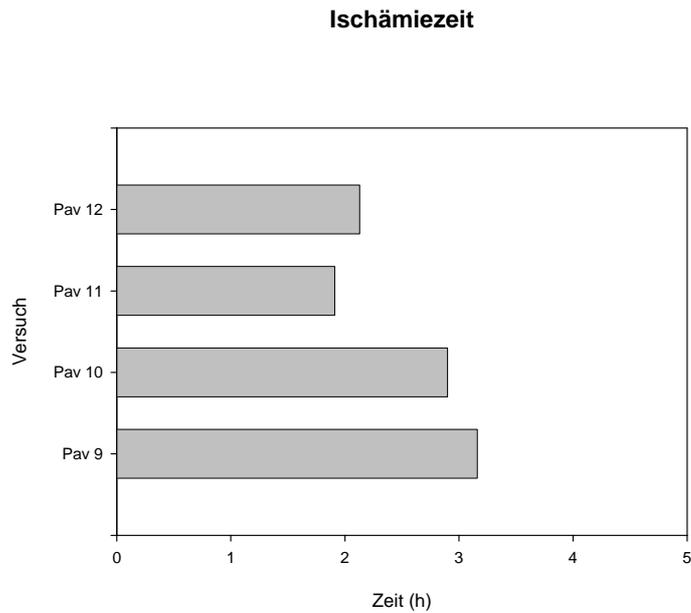


Abb. 22: Ischämiezeit des Xenotransplantats in Gruppe C

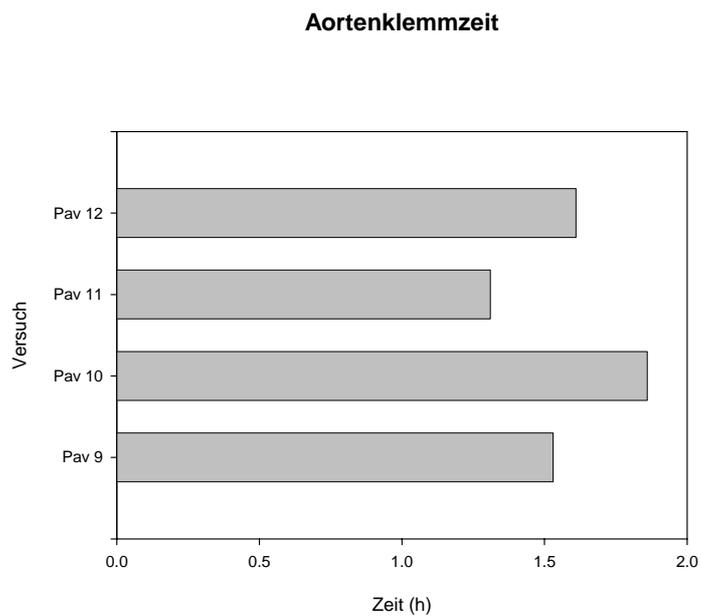


Abb. 23: Aortenklammzeit bei der oXHTX in Gruppe C

Die durchschnittliche Ischämiezeit der Gruppe C lag bei $2\text{h } 31\text{min} \pm 0\text{h } 17\text{min}$ (1h 55min – 3h 10min, bei einer durchschnittlichen Aortenklammzeit von $1\text{h } 35\text{min} \pm 0\text{h } 06\text{min}$ (1h 19min – 1h 52min).

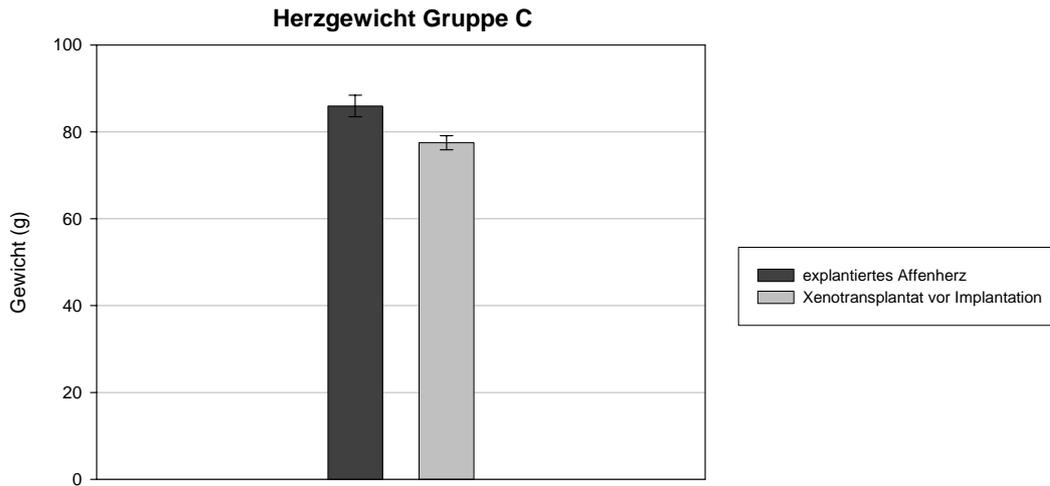


Abb. 24: Herzgewicht - Mittelwerte - in Gruppe C

Die aus den Affen explantierten Herzen der Gruppe C hatten ein durchschnittliches Gewicht von $85,95 \text{ g} \pm 2,46 \text{ g}$ ($80,50 - 91,70 \text{ g}$), die implantierten Schweineherzen hatten bei Implantation ein durchschnittliches Gewicht von $77,50 \text{ g} \pm 1,64 \text{ g}$ ($75,00 - 82,20 \text{ g}$). Das ergibt ein durchschnittliches Verhältnis von implantiertem Affenherz zu explantiertem Schweineherz von $90,39 \% \pm 2,93 \%$ ($84,30 - 98,33 \%$).

Besonderheiten in der körperlichen Untersuchung und im EKG

In Gruppe C gab es außer bei PAV 11 keine Besonderheiten in der körperlichen Untersuchung oder im EKG.

PAV 11

Tag	1
Gewicht (kg)	20,5
Herz	
Lunge	
Abdomen	
OP-Wunde	
Transplantat-EKG	Tachykardie

Tab. 15: Besonderheiten körperliche Untersuchung und EKG PAV 11

Blutuntersuchungen

Die Blutuntersuchungen wurden zu folgenden Zeiten abgenommen: am Tag -1, am Tag 0, nach Durchführung der Immunadsorption (n. ADA), 30, 90 und 180 Minuten nach Beginn der Operation, und einmal an jedem postoperativen Tag.

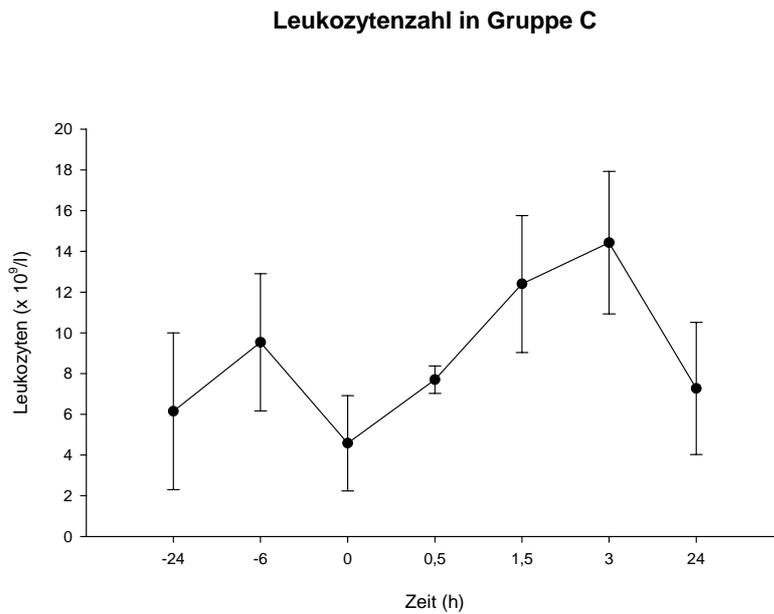


Abb. 25: Leukozytenzahl - Mittelwerte – der Gruppe C im Verlauf

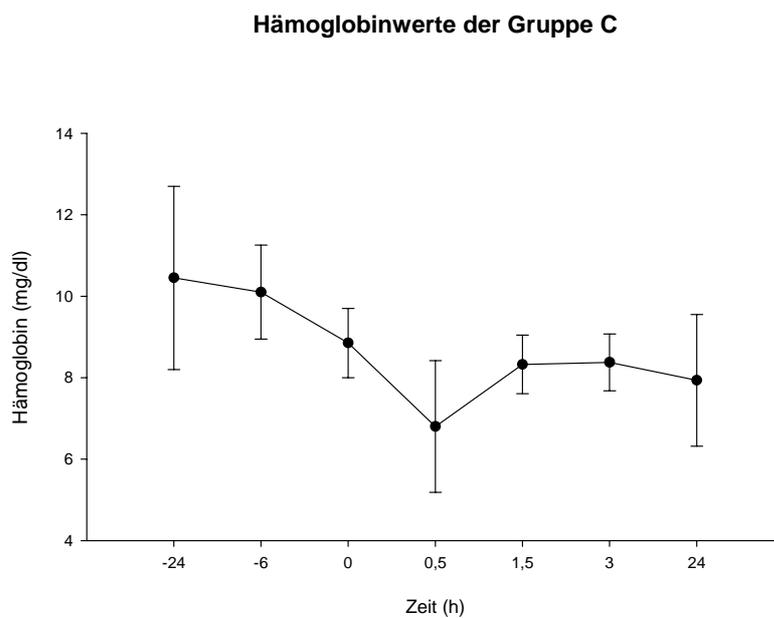


Abb. 26: Hämoglobinwerte - Mittelwerte - der Gruppe C im Verlauf

Thrombozytenzahl in Gruppe C

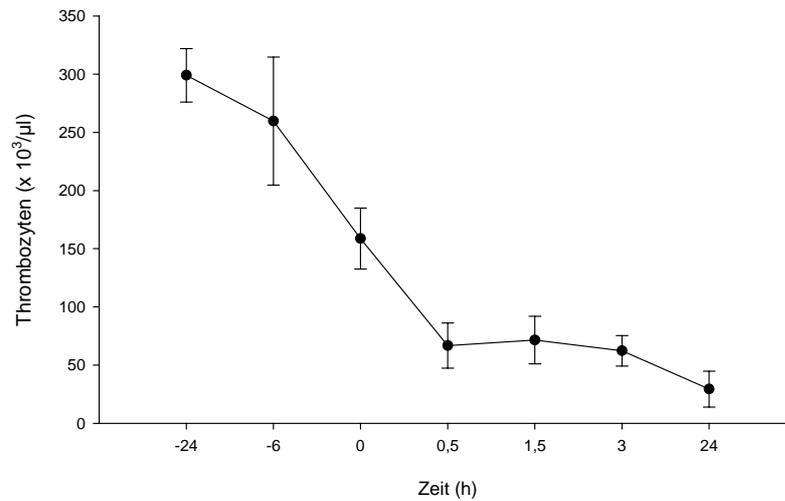


Abb. 27: Thrombozytenzahl - Mittelwerte - der Gruppe C im Verlauf

Immunadsorption

Antipig-Antikörper Gruppe C

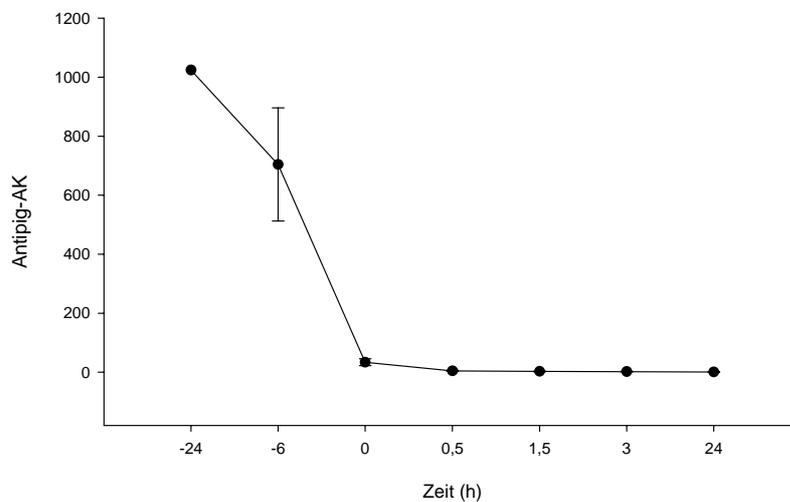


Abb. 28: Antipig-Antikörper-Titer - Mittelwerte - der Gruppe C im Verlauf

Der Ausgangswert der Antipig-Antikörper betrug in der Gruppe C durchschnittlich 1024 ± 0 ($1024 - 1024$), und wurde nach Durchführung der Immunadsorption auf durchschnittlich $34 \pm 11,49$ ($8 - 64$) (nach einem Tag) gesenkt.

Es wurden jeweils 14 Zyklen der Immunadsorption durchgeführt, ausgenommen Pav 9, bei dem 10 Zyklen durchgeführt wurden.

Gruppe D

Basisdaten

In der Gruppe D wurden orthotope Herztransplantationen von genetisch veränderten, hDAF-exprimierenden Schweineherzen ohne Immunadsorption transplantiert.

Versuch	Pav 15	Pav 16	Pav 17	Pav 20	MW
Art des Versuchs	ort hDAF xHTX	ort hDAF xHTX	ort hDAF xHTX	ort hDAF xHTX	
Geschl. (1m/0w)	1	1	1	1	
Gewicht Affe (g)	24800	29400	17200	31000	25600
Gewicht Schwein (g)	18000	22000	11000	24000	18750
Spender-Empfänger-Rel (%)	72,58	74,83	63,95	77,42	72,20

Tab. 16: Basisdaten der Gruppe D

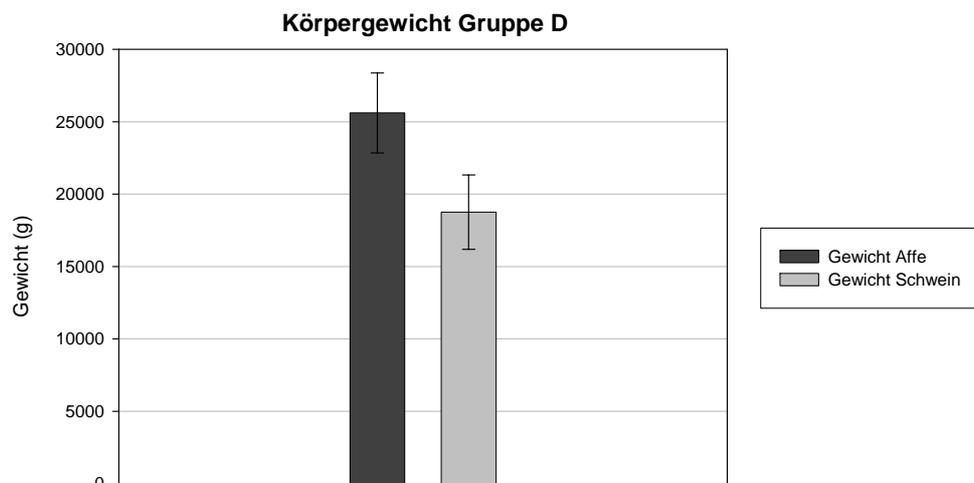


Abb. 29: Körpergewicht - Mittelwerte - in Gruppe D

Die Gruppe D bestand aus 4 Pavianen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 25,60 kg \pm 2,77 kg (17,20 – 31,00 kg), davon 3 männliche und 1 weiblicher Pavian. Die transgenen Schweine hatten ein durchschnittliches Körpergewicht von 18,75 kg \pm 2,57kg (11,00 – 24,00 kg). Die Spender-Empfänger-Relation betrug durchschnittlich 72,20 % \pm 2,61 % (63,95 – 77,42 %).

Operationsdaten, Transplantatdaten und Überlebenszeit

Versuch	Pav 15	Pav 16	Pav 17	Pav 20	MW
Art des Versuchs	ort hDAF xHTX	ort hDAF xHTX	ort hDAF xHTX	ort hDAF xHTX	
Empfängerherz Gewicht (g)	98,4	143,0	86,2	182,0	127,4
Graftgew. vorher (g)	84,9	114,0	59,1	112,6	92,65
Graftgew. nachher (g)	142,3	160,1	177,7	218,0	174,53
Graft zu Explant. (%)	86,28	79,72	68,56	61,87	74,11
Ischämie (h)	2:36	2:36	1:40	2:19	2:17
Aortenklemmzeit (h)	1:12	1:07	1:12	1:23	1:13
Transplantat- überleben (h)	266:01	1:03	464:17	313:12	261:08
in Tagen	11d 2h 01m	0d 1h 03m	19d 8h 17m	13d 1h 12m	
Terminiert (1J /0N)	1	0	0	1	

Tab. 17: Operationsdaten, Transplantatdaten, Überlebenszeit der Gruppe D

Überlebenszeit der Gruppe D

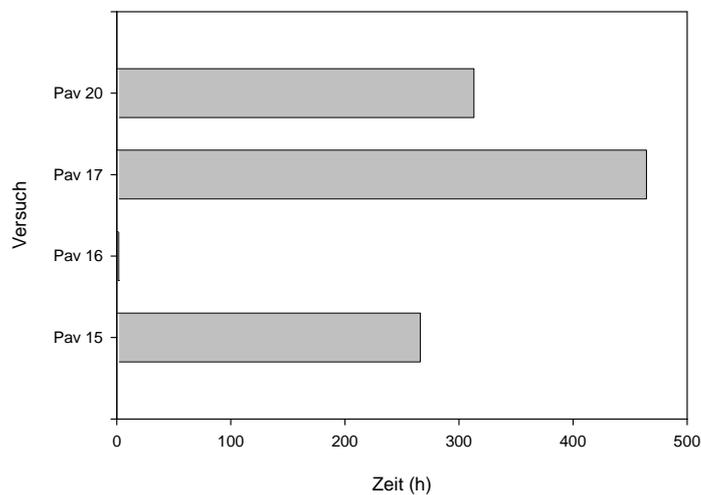


Abb. 30: Überlebenszeit in Gruppe D

Die durchschnittliche Überlebenszeit der Transplantate lag bei 261h 08min \pm 86h 16min (1h 03min – 464h 17min) (~ 11 Tage).

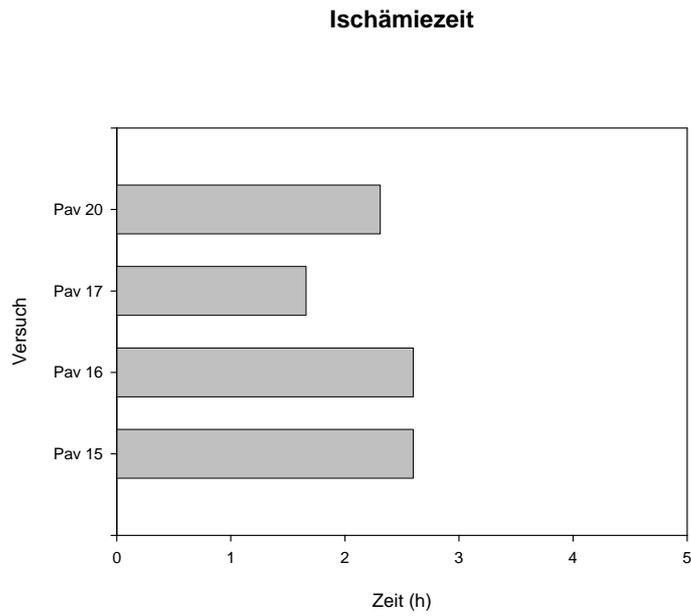


Abb. 31: Ischämiezeit des Xenotransplantats in Gruppe D

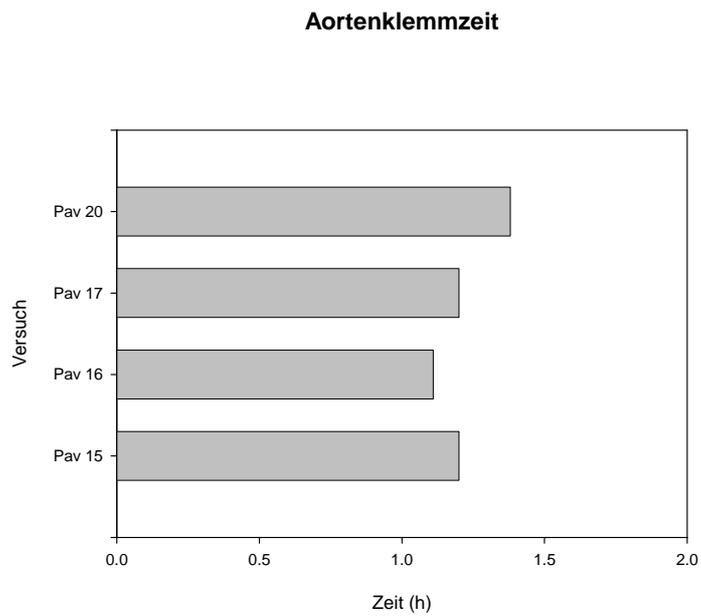


Abb. 32: Aortenklemmzeit bei der oXHTX hDAF in Gruppe D

Die durchschnittliche Ischämiezeit lag bei $2\text{h } 17\text{min} \pm 0\text{h } 13\text{min}$ ($1\text{h } 40\text{min} - 2\text{h } 36\text{min}$), bei einer durchschnittlichen Aortenklemmzeit von $1\text{h } 13\text{min} \pm 0\text{h } 03\text{min}$ ($1\text{h } 07\text{min} - 1\text{h } 23\text{min}$).

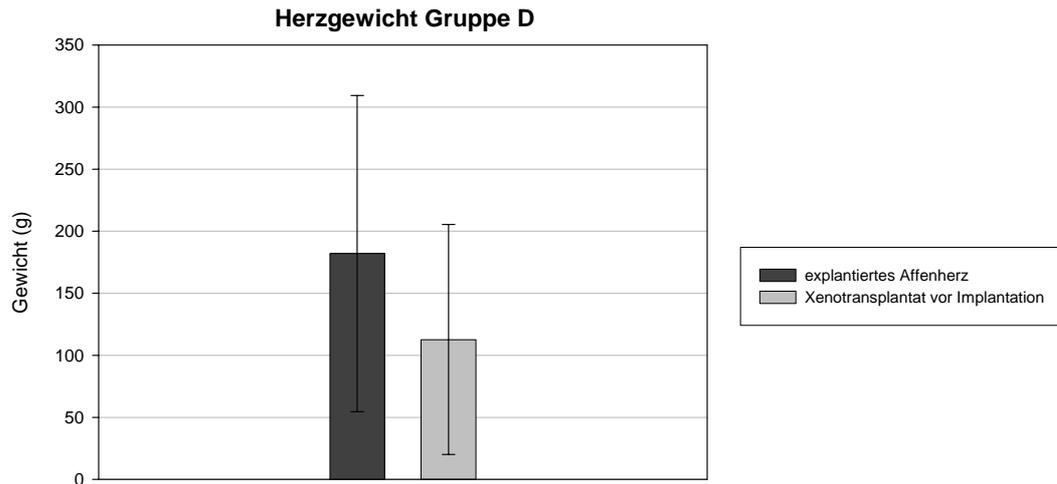


Abb. 33: Transplantatgewicht - Mittelwerte - in Gruppe D

Die aus den Affen explantierten Herzen hatten ein durchschnittliches Gewicht von $127,4 \text{ g} \pm 19,6 \text{ g}$ ($86,2 - 182,0 \text{ g}$), die implantierten Schweineherzen hatten bei Implantation ein durchschnittliches Gewicht von $92,65 \text{ g} \pm 11,66 \text{ g}$ ($59,1 - 114,0 \text{ g}$). Das ergibt ein durchschnittliches Verhältnis von implantiertem Affenherz zu explantiertem Schweineherz von $74,11 \% \pm 4,90 \%$ ($61,87 - 86,28 \%$).

Besonderheiten bei der körperlichen Untersuchung und im EKG

In Gruppe D gab es nur bei PAV 16 keine Besonderheiten in der körperlichen Untersuchung oder im EKG.

PAV 15

Tag	1	3	4	5	8	10
Gewicht (kg)	24,8	26,3	26,8	27,0	24,2	23,5
Herz						
Lunge						
Abdomen		Diarrhoe	Ascites, Ödem Bauch,	Ascites zugenommen	Fieber, Ascites weniger	Hyper-Salivation, Diarrhoe, Hämorrhagien
OP-Wunde						
Empfänger-EKG						
Transplantat-EKG	VES	ST-Strecke verlängert				Tachykardien

Tab. 18: Besonderheiten Untersuchung und EKG PAV 15

PAV 17

Tag	2	6	7	9	11	12	14	19
Gewicht (kg)	17,5	18,4	18,5	18,3	18,6	18,5	18,1	17,9
Herz		1/6 Systo- likum	Pericard- reiben	Pericard- reiben				
Lunge								Dyspnoe, Tachypnoe
Abdomen	Diarrhoe					DG spärlich	Erbre- chen	
OP-Wunde								
Empfänger- EKG					VES			

Tab. 19: Besonderheiten Untersuchung und EKG von PAV 17

PAV 20

	2	3	10	12	13
Gewicht (kg)	30,8	29,8	28,1	28,5	27,9
Herz		Pericard- erguß			
Lunge			Knistern li.		
Abdomen	Zungen- belag		Blut Magen- sonde, Hämath- urie	Erbrechen, Melaena, Pete- chien, Darmgeräusche hochgestellt	Bauch hart, Ileussymp- tomatik
OP-Wunde					
Empfänger- EKG					ST-Senkung

Tab. 20: Besonderheiten Untersuchung und EKG von PAV 20

Blutuntersuchungen

Die Blutuntersuchungen wurden zu folgenden Zeiten abgenommen: am Tag -1, am Tag 0, nach Durchführung der Immunadsorption (n. ADA), 30, 90 und 180 Minuten nach Beginn der Operation, und einmal an jedem postoperativen Tag.

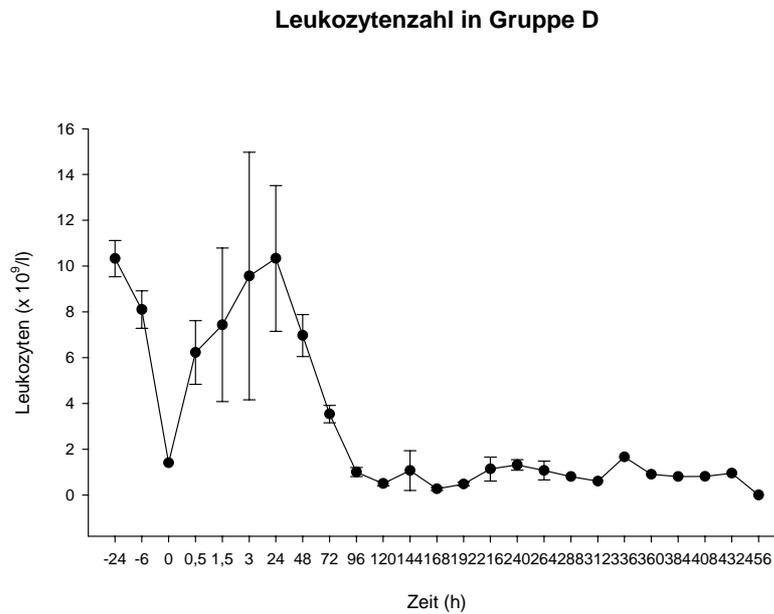


Abb. 34: Leukozytenzahl - Mittelwerte – der Gruppe D im Verlauf

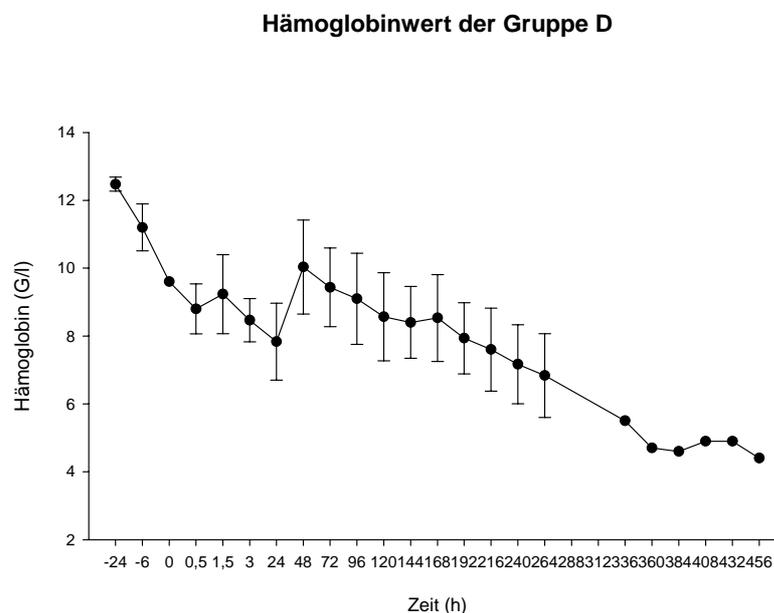


Abb. 35: Hämoglobinwerte - Mittelwerte - der Gruppe D im Verlauf

Thrombozytenzahl in Gruppe D

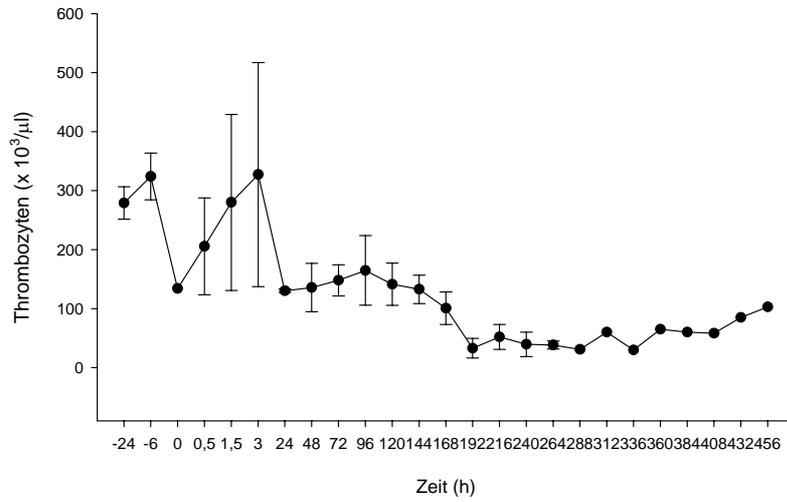


Abb. 36: Thrombozytenwerte - Mittelwerte - der Gruppe D im Verlauf

Immunadsorption

Antipig-Antikörper Gruppe D

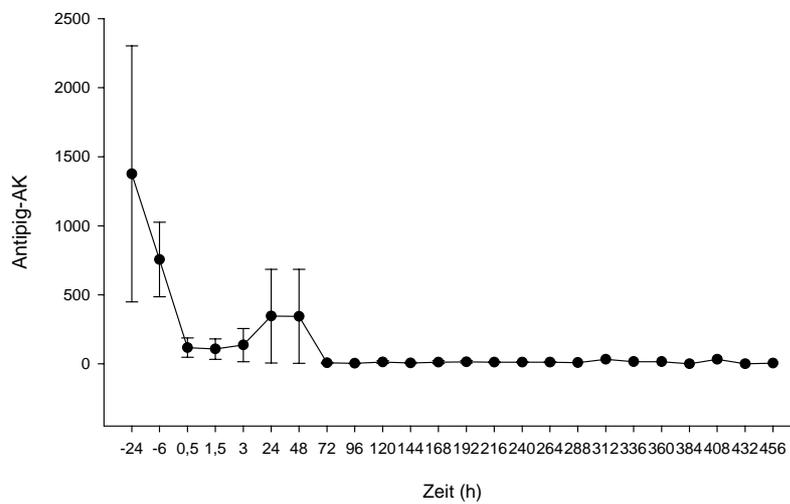


Abb. 37: Antipig-Antikörper-Titer - Mittelwerte - in Gruppe D

Immunsuppression

Gruppe A

PAV 3

Tag	-1		0		1		2		3		4	
Antipig AK			1/64		1/16		1/2		1/2		1/2	
CyA-Spiegel (ng)			<30		874		626		788		596	
ERL-Spiegel					0,67		10,3		2,25		0,19	
CPh-Gabe (mg)	800		400				400		600			
ERL-Gabe (g)	1		1		1	2	2		1			
CyA-Gabe (g)							0,2	1	1	1	1	1,5
Methylprednisolon (mg)					20		20		20	300	320	

Tag	5		6		7		8		9		10	
Antipig AK	1/2		1/2		1/2		1/2		1/3		1/6	
CyA-Spiegel (ng)			584		1630		1180		1304		944	
ERL-Spiegel			0,1				0,2		0,2		0,03	
CPh-Gabe (mg)												
ERL-Gabe (g)												
CyA-Gabe (g)	1	2	1	2	2	1,5	1,5		2	2	2	2
Methylprednisolon (mg)	320		320		320	20	320		20	20	20	20

Tag	11	
Antipig AK	1/12	
CyA-Spiegel (ng)	1360	
ERL-Spiegel	<0,1	
CPh-Gabe (mg)		
ERL-Gabe (g)		
CyA-Gabe (g)	2	2
Methylprednisolon (mg)	20	20

Tab. 21: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 3

PAV 5

Tag	-1		0	
Antipig AK	0		0	
CyA-Spiegel (ng)				
ERL-Spiegel				
CPh-Gabe (mg)	800		400	
ERL-Gabe (g)	1,4			
CyA-Gabe (g)				
Methylprednisolon (mg)			20	

Tab. 22: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 5

PAV 7

Tag	-1	0
Antipig AK	0	0
CyA-Spiegel (ng)		
ERL-Spiegel		
CPh-Gabe (mg)	800	400
ERL-Gabe (g)	1,4	
CyA-Gabe (g)		
Methylprednisolon (mg)		20

Tab. 23: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 7

PAV 8

Tag	-1	0
Antipig AK	0	0
CyA-Spiegel (ng)		
ERL-Spiegel		
CPh-Gabe (mg)	800	400
ERL-Gabe (g)	1,4	
CyA-Gabe (g)		
Methylprednisolon (mg)		20

Tab. 24: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 8

PAV 13

Tag	-1	0	1	2	3	4
Antipig AK	1:256	1:8	1:4	1:2	1:4	0
CyA-Spiegel (ng)				1136	960	936
ERL-Spiegel				0,58	4,45	5,66
CPh-Gabe (mg)				400	600	
ERL-Gabe (g)				1	2	2
CyA-Gabe (g)				1	1	2
Methylprednisolon (mg)				1000	20	1000

Tag	5	6	7	8	9	10
Antipig AK		1:4	1:8	1:8	1:16	1:32
CyA-Spiegel (ng)	>1000		510		776	836
ERL-Spiegel	0,3				0,15	0,14
CPh-Gabe (mg)						
ERL-Gabe (g)	2					
CyA-Gabe (g)	2	1	1	2	2	2
Methylprednisolon (mg)	20	20		40	40	40

Tag	11	12	13	14	15
Antipig AK	1:1		1:256	1:1024	1:1024
CyA-Spiegel (ng)					
ERL-Spiegel					
CPh-Gabe (mg)					
ERL-Gabe (g)					2
CyA-Gabe (g)		3	3	2	3
Methylprednisolon (mg)		200	40	40	

Tab. 225: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 13

Gruppe B

PAV 14

Tag	-1	0	1	2	3	4				
Antipig AK			1:4	1:2	1:8	1:2				
CyA-Spiegel (ng)		<30	188	1820	980	1034				
ERL-Spiegel		0,29	2,09	0,24	2,26	4,68				
CPh-Gabe (mg)		500								
ERL-Gabe (g)		1,75	1,75	1,75	3	2	3	2	3	
CyA-Gabe (g)		5	2	3	2	2	2	3	2	3
Methylprednisolon (mg)			20		20	20	20	20	20	20

Tag	5	6		
Antipig AK	1:4	1:256		
CyA-Spiegel (ng)	1149	1050		
ERL-Spiegel	2,85	3,86		
CPh-Gabe (mg)				
ERL-Gabe (g)	2	3	2	
CyA-Gabe (g)	2	3	2	
Methylprednisolon (mg)	20	20	20	

Tab. 26: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 14

PAV 18

Tag	-1	0	1	2	3			
Antipig AK	1:1024		1:16	1:32				
CyA-Spiegel (ng)			2260	3310	1100			
ERL-Spiegel			6,16	1,35	3,03			
CPh-Gabe (mg)	600	300		400				
ERL-Gabe (g)	0,5	0,5	1,0	0,5	0,5	1,5	1	1,5
CyA-Gabe (g)			1,5	1,0				1,0
Methylprednisolon (mg)		20	20	20	20	20		

Tab. 27: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 18

PAV 19

Tag	-1	0	1	2	3	4						
Antipig AK	1:64		1:128	1:64		1:64						
CyA-Spiegel (ng)			720		894	684						
ERL-Spiegel			0,91		7,07	6,87						
CPh-Gabe (mg)	600											
ERL-Gabe (g)	1		1	1,5	2	2	2,5		1,5	1,5		
CyA-Gabe (g)			1	1,5	1,5	1,5	2,5		2,5		1,5	2
Methylprednisolon (mg)			20		20						20	

Tag	5		6		7		8	
Antipig AK			1:64		1:32		1:64	
CyA-Spiegel (ng)			1155		1314			
ERL-Spiegel			3,6		4,17			
CPh-Gabe (mg)								
ERL-Gabe (g)	2	1,5	2	2	2	1,5	1,5	
CyA-Gabe (g)	2	1,5	2	2	2	2	2	
Methylprednisolon (mg)	20		20		20		20	

Tab. 28: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 19

PAV 21

Tag	-1		0		1		2	
Antipig AK	1:256		1:16		1:16		1:32	
CyA-Spiegel (ng)							2741	
ERL-Spiegel					2,7		3,2	
CPh-Gabe (mg)	600		400				200	
ERL-Gabe (g)	1		1		2	1,5	2	1
CyA-Gabe (g)			0,5		1,5	2	2	1
Methylprednisolon (mg)					20		20	

Tab. 29: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 21

Gruppe C

PAV 9

Tag	-1		0		1	
Antipig AK			1:256			
CyA-Spiegel (ng)						
ERL-Spiegel						
CPh-Gabe (mg)	800		400			
ERL-Gabe (g)	1,4		1,4			
CyA-Gabe (g)				0,5	0,4	
Methylprednisolon (mg)			20		20	

Tab. 30: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 9

PAV 10

Tag	-1		0		1	
Antipig AK			1:1024			
CyA-Spiegel (ng)						
ERL-Spiegel						
CPh-Gabe (mg)	800		400			
ERL-Gabe (g)	1,4		1,4			
CyA-Gabe (g)				0,5	0,4	
Methylprednisolon (mg)			20		20	

Tab. 31: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 10

PAV 11

Tag	-1		0		1	
Antipig AK			1:1024		1:2	
CyA-Spiegel (ng)						
ERL-Spiegel						
CPh-Gabe (mg)	800		400			
ERL-Gabe (g)	1,4		1,4			
CyA-Gabe (g)				0,5	0,4	
Methylprednisolon (mg)			20		20	

Tab. 32: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 11

PAV 12

Tag	-1		0	
Antipig AK	1:1024		1:512	
CyA-Spiegel (ng)				
ERL-Spiegel				
CPh-Gabe (mg)	800		400	
ERL-Gabe (g)	1,4			
CyA-Gabe (g)				
Methylprednisolon (mg)			20	

Tab. 33: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 12

Gruppe D

PAV 15

Tag	-1		0		1		2		3		4	
Antipig AK	1:128				1:4		1:2		1:2		1:2	
CyA-Spiegel (ng)							1135		1255		1514	
ERL-Spiegel							2,38		3,46		14,22	
CPh-Gabe (mg)	800		1800		500					500		
ERL-Gabe (g)	2		1,8		1,8		1,5	2	1,5	2	2	2
CyA-Gabe (g)							1,5	2	1,5	2	2	2
Methylprednisolon (mg)			20				20		20	20	20	20

Tag	5		6		7		8		9		10	
Antipig AK	1:1		1:1		1:1		1:4		1:4			
CyA-Spiegel (ng)	648				267		1305		1398		1203	
ERL-Spiegel	0,61						3,13		9,7		2,54	
CPh-Gabe (mg)		125										
ERL-Gabe (g)	1	2	2	2		2,5	2	2	2	1	2,5	
CyA-Gabe (g)	2	2,5	2,5	2		2	2,5	2	2	2	2,5	
Methylprednisolon (mg)	20		20		20		20		20			

Tag	11	
Antipig AK		
CyA-Spiegel (ng)	786	
ERL-Spiegel	1,52	
CPh-Gabe (mg)		
ERL-Gabe (g)	2	2
CyA-Gabe (g)	2,5	2
Methylprednisolon (mg)	20	

Tab. 34: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 15

PAV 16

Tag	-1		0	
Antipig AK	1:1024		1:32	
CyA-Spiegel (ng)				
ERL-Spiegel				
CPh-Gabe (mg)	1000		500	
ERL-Gabe (g)	2			
CyA-Gabe (g)				
Methylprednisolon (mg)			30	

Tab. 35: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 16

PAV 17

Tag	-1		0		1		2		3		4	
Antipig AK	1:4096		1:1024		1:1024		1:1024		1:16		1:4	
CyA-Spiegel (ng)							1450		2000		965	
ERL-Spiegel							1,44		5,71		0,64	
CPh-Gabe (mg)			1000		360				360	180		
ERL-Gabe (g)			1		1		0,6	1,5	2	2	1,5	2
CyA-Gabe (g)							1,8	2	1,5	1,5	1	2
Methylprednisolon (mg)												

Tag	5		6		7		8		9		10	
Antipig AK	1:4		1:2		1:2		1:8		1:16		1:8	
CyA-Spiegel (ng)	915		1580		1325		1044		1760			
ERL-Spiegel	2,99,3		9,3		0,1		0,67		0,84			
CPh-Gabe (mg)	180		20									
ERL-Gabe (g)	2	1,5	2		1			1				
CyA-Gabe (g)	2	2	2	1,5	1,5	2	2	2	2	1,5	2	2
Methylprednisolon (mg)			20		20		20		20		20	20

Tag	11		12		13		14		15		16	
Antipig AK	1:8						1:16		1:16			
CyA-Spiegel (ng)	1244		2700		1816				4280		1845	
ERL-Spiegel	0,03		4,86		4,2				4,77		2,9	
CPh-Gabe (mg)				90	90							
ERL-Gabe (g)	1,5	1,5	2	1,5	1,5	2	1,5	1,5	2	1,5	1,5	1,5
CyA-Gabe (g)	1,5	2	2		1,5	1,5	1,5	1,5	2			1
Methylprednisolon (mg)									20		20	

Tag	17		18		19	
Antipig AK	1:32				1:4	
CyA-Spiegel (ng)			3900		3910	
ERL-Spiegel			3,8		7,39	
CPh-Gabe (mg)						
ERL-Gabe (g)	1,5	2	1,5	2	1,5	
CyA-Gabe (g)	1,5	2	1,5			
Methylprednisolon (mg)	20		20		20	

Tab. 36: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 17

PAV 20

Tag	-1		0		1		2		3		4	
Antipig AK	1:256		1:215		1:8		1:4		1:2		1:2	
CyA-Spiegel (ng)					1500		1808		1396		1484	
ERL-Spiegel												
CPh-Gabe (mg)	1300		600						600			
ERL-Gabe (g)	2,2		2,2		2,2	2	2	3	3	1	2	2,5
CyA-Gabe (g)	700		2,5	2,5	2,5	3	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Methylprednisolon (mg)			30		20		20				20	

Tag	5		6		7		8		9		10	
Antipig AK	1:32		1:16		1:32		1:32		1:16		1:16	
CyA-Spiegel (ng)	1416		1664				1300		1496		3580	
ERL-Spiegel	1,1		1,5				1,1		2,5		2,4	
CPh-Gabe (mg)												
ERL-Gabe (g)	2,5	3	2,5	3	2,5	2,5	2,5	3	3	3	1	
CyA-Gabe (g)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	
Methylprednisolon (mg)	20		20		20		20				20	

Tag	11		12		13	
Antipig AK	1:16		1:8		1:32	
CyA-Spiegel (ng)						
ERL-Spiegel						
CPh-Gabe (mg)						
ERL-Gabe (g)	1		1		1	
CyA-Gabe (g)	1		1		1	
Methylprednisolon (mg)	20		20		20	

Tab. 37: Immunsuppressionsgaben und Blutspiegel von Pav 20

Diskussion

Bislang wurde in der Literatur kein Langzeitüberleben von orthotop transplantierten Schweineherzen in Primaten berichtet. Fukushima et al. erreichten 1994 die bisher längste berichtete Überlebensdauer durch Absorption der präformierten natürlichen Antikörper (PNAK) des Empfängerpavians mit einer Schweinelunge (80). Zudem führten sie zwei Wochen vor Transplantation eine Splenektomie durch und zum Zeitpunkt der Reperfusion des Transplantats eines neugeborenen Spenderschweins wurde der alternative Weg der Komplementaktivierung im Empfänger durch Infusion mit einem Komplementinhibitor gehemmt (81). Cyclosporin A und 15-Deoxyspergualin (DSG) wurden als postoperative Immunsuppressiva verabreicht. Das Tier verstarb nach 16 Tagen an den Folgen einer CMV-Infektion (80, 82). In derselben Studie wurden zwei Schweineherzen nach 4,5 und 18 Stunden hyperakut abgestoßen, nachdem keine Absorption der PNAK vor Reperfusion des Transplantats durchgeführt wurde.

Im Tiermodell wurde zum ersten Mal 1905 eine heterotope Herztransplantation an Halsgefäße von Carrel durchgeführt. Dabei wurden beide Vorhöfe über die Carotiden gefüllt und die Ventrikel in die V. jugularis drainiert (83). 1933 etablierten Mann et al. ein „in vivo Langendorff-Modell“, in welchem die Spenderaorta und damit die Koronararterien retrograd über die Carotiden gefüllt wurden und das venöse Blut aus dem Koronarsinus über den rechten Ventrikel und die Pulmonalarterie in die V. jugularis drainiert wurde (84). Diese Methode wurde in modifizierter Form von Meisner et al. erstmals 1968 in Deutschland durchgeführt. Abott (85) bzw. Ono und Lindsey (86) etablierten eine zu Mann et al. analoge Technik in abdominalen Position (87). Jamieson et al. (88) und die Arbeitsgruppen von Michler und Minanov an der Columbia University, New York (89, 90) haben in jüngerer Zeit die Technik der heterotopen Herztransplantation weiter modifiziert. Allen Techniken sind situs-spezifische Komplikationen eigen. Wir entschieden uns für das Modell der orthotopen Herztransplantation, um die Möglichkeit einer klinischen Anwendung zu eruieren.

In unseren Untersuchungen wurden Schweineherzen aus Landrasseschweinen (nicht genetisch verändert) und hDAF-transgene Schweineherzen transplantiert. PNAK wurden mittels Immunadsorption aus dem Empfänger entfernt, aber keine Maßnahmen zur systemischen Inaktivierung des Komplementsystems getroffen. Es wurde auch keine Splenektomie zur Hemmung der humoralen Immunantwort durchgeführt (91). Zur Immunsuppression wurde DSG durch Cyclophosphamid ersetzt, das sich in Vorversuchen als

unerlässliches Medikament zur Verhinderung der Abstoßungsreaktion in der frühen postoperativen Phase erwiesen hatte. Zusätzlich wurde Mycofenolat verabreicht (92).

Eine heterotope oder orthotope Herztransplantation von Schwein auf Primat, hier als präklinische Untersuchung zur Anwendung am Menschen, stellt höchste Anforderungen an Organisation und Logistik.

Präoperatives Management

Schweine

Um das Risiko einer Infektion des Transplantatempfängers mit Bakterien, Pilzen, Parasiten und Prionen so niedrig wie möglich zu halten, ist es notwendig, die Spenderschweine unter spezifisch pathogenfreien Bedingungen zu halten (93). Dies erfordert eine geregelte und kontrollierte Aufzucht unter strengen antiseptischen Bedingungen mit kontrollierter Fütterung und Trennung der einzelnen Tiere voneinander.

Zudem unterliegen die hDAF-transgenen Schweine patent- und tierschutzrechtlichen Grundsätzen sowie dem Gesetz für gentechnisch veränderte Lebewesen, und werden deshalb unter höchsten Sicherheitsbestimmungen der Stufe S1 gehalten.

Eine funktionierende, alle o.g. Aspekte berücksichtigende, und für die Spendertiere schonende Transportkette vom Ort der Aufzucht zum Transplantationsort ist zeit- und kostenaufwendig.

Die Vorbereitung auf die Transplantation läuft nach immer demselben Schema ab und ist gut zu koordinieren.

Paviane

Die Haltung der Paviane wird maßgeblich von tierschutzrechtlichen Bestimmungen geregelt und stellt ebenfalls eine große Herausforderung dar. Mindestanforderungen an die Größe des Käfigs, die Bedingungen der Umgebung, die Häufigkeit der Fütterung usw. müssen eingehalten werden. Auch hier ist es wichtig, möglichst keimarme Bedingungen zu schaffen, um ein Infektionsrisiko, wie bereits bei den Schweinen erwähnt, zu minimieren. Die Vorbereitungen für die Transplantation entsprechen in etwa den Vorbereitungen, wie man sie auch bei einem Menschen treffen müsste.

Operatives Management

Um die Ischämiezeit des Transplantats und die Zeit des extrakorporalen Kreislaufs möglichst kurz zu halten, ist eine parallele Operation von Spender und Empfänger sinnvoll. Wesentliche Vorteile hat die Durchführung beider Operationen in einem Operationssaal. Hier ist es möglich, dass das Operationsteam von Spender zu Empfänger ohne lange Wegezeit wechseln kann, außerdem herrscht ein andauernder Informationsaustausch über den Zustand der Tiere.

Begonnen wird mit der Narkose und Operation des Pavians. Hierbei erfolgt zunächst die Immunadsorption. Während diese läuft, wird das Schwein in den OP verbracht und der Herzsitus freigelegt. Ist das Ende der Immunadsorption des Affens abzusehen, wird das Herz explantiert und gekühlt gelagert. Dann folgt die Transplantationsoperation am Pavian. Wir konnten so im Mittel eine Ischämiezeit von 2 Stunden 28 Minuten erzielen. Eine kürzere Ischämiezeit könnte z.B. durch paralleles Operieren von zwei Ärzteteams erzielt werden, was wegen des begrenzten Personals hier nicht möglich war.

Postoperatives Management

Aufgrund der lokalen und organisatorischen Gegebenheiten konnten wir für die operierten Paviane keine einer Klinik entsprechende Intensivstation einrichten. Wir ließen sie bereits wenige Stunden nach der Operation aufwachen. Hier unterscheidet sich das operative Konzept beim Pavian zu dem beim Menschen, welcher nach der OP eine geraume Zeit analgosediert auf der Intensivstation verbringen würde. Trotzdem muß der Pavian postoperativ mind. 24 Std. kontinuierlich überwacht werden. Danach kann auf den postoperativen Behandlungszyklus übergegangen werden, mit zwei täglichen Untersuchungen in Kurznarkose, morgens und abends. Damit ist eine gute Kontrolle des postoperativen Zustands möglich. Die Kurznarkose mit Ketanest ist gut zu dosieren und für den Pavian schonend durchzuführen. Die verabreichte Schmerztherapie war ausreichend, was wir aufgrund recht lebhafter Bewegungen ersehen konnten. Sobald man Hinweise für ein Leiden irgendeiner Form hatte, wurde der Versuch abgebrochen.

Überleben und Todesursache

In der Gruppe mit heterotop transplantierten Herzen kam es bei zwei der fünf Landrasse-Transplantate durch eine HAR zu Transplantatversagen, wobei es sich bei einem Fall um eine

Kontrolle handelte. Bei einem Herzen musste das Empfängertier nach 15 Tagen aufgrund einer AVA des Xenotransplantats euthanasiert werden, ein weiteres Tier erlag am 11. Tag einem respiratorischen Versagen. In der hDAF-transgenen Transplantatgruppe mussten alle Tiere aufgrund einer AVA des Xenotransplantats euthanasiert werden.

In der Gruppe der orthotop transplantierten Herzen mußte in der Landrassegruppe ein Tier nach 23 Stunden aufgrund von hypotensiver Kreislaufsituation bei Herz-Rhythmusstörungen bei akutem Nierenversagen euthanasiert werden. Alle anderen Tiere erlagen einem Herz-Kreislaufversagen, eines wegen einer HAR, ein zweites wegen respiratorischer Insuffizienz und ein letztes wegen eines Multiorganversagens. In der hDAF-transgenen Transplantatgruppe mussten zwei der vier Tiere, eines am 11. und eines am 13. Tag, aufgrund eines akuten Nierenversagens und eines Ileus euthanasiert werden. Der längste Überlebende in dieser Untersuchung starb nach 19 Tagen an einer Anämie, ein Pavian verstarb an einem akuten Transplantatversagen bei insuffizienter Kardioplegie.

Immunsuppression

In einem von Leventhal 1995 und Lin 1997 durchgeführten heterotopen Primatenmodell (heterotope Schweineherztransplantation in Paviane) konnte gezeigt werden, dass durch eine Immunadsorption PNAK eine HAR vermieden und der Beginn einer AVA um Tage bis Wochen verzögert werden kann (94, 95). Bei orthotoper Allo- und Isotransplantation von Schweineherzen konnte Calne 1978 eine minimale Überlebensdauer von 3 Tagen und eine maximale Überlebensdauer von 1,5 Jahren erzielen (96). Diese Experimente beweisen, dass im Prinzip Schweineherzen erfolgreich als Spenderorgane verwendet werden können. Fukushima hat 1996, wie bereits erwähnt, gezeigt, dass sich eine Absorption von PNAK vor Reperfusion des Transplantats mittels Hämoperfusion von Schweineorganen zur Verhinderung einer HAR als wirksam erwiesen hat (91). Roslin et al. eliminierten die PNAK durch eine präoperative Hämoperfusion durch die Spendermilz in Kombination mit einer Ganzkörperbestrahlung (97). Das am längsten überlebende Transplantatherz wurde nach 15 Tagen abgestoßen. In dieser Studie korrelierte die Überlebensdauer der Xenotransplantate mit der Effektivität der Antikörperabsorption. Diese Ergebnisse lassen daher vermuten, dass ein immunsuppressives Protokoll, das bei geringer Toxizität die induzierte humorale Immunantwort sicher und reproduzierbar unterdrücken könnte, ein Langzeitüberleben hDAF-transgener Schweineherzen in Primaten erlauben würde. Schmoeckel et al. zeigten, dass histologische Befunde des hDAF-transgenen Xenotransplantats bei später Abstoßung

daraufhin weisen, dass möglicherweise in seinen durchgeführten Versuchen teilweise ein grundlegendes Ziel bei der Transplantation von diskordanten Organen erreicht wurde, nämlich die Überwindung der antikörpervermittelten HAR (98). Bei der Abstoßung länger überlebender Xenotransplantate scheint es sich überwiegend um einen zellvermittelten Prozess zu handeln. Dies impliziert, dass sich mit einer geeigneten immunsuppressiven Kombination transgene Xenotransplantate wie Alлотransplantate verhalten, und ein Langzeitüberleben daher sicher und verlässlich erreicht werden könnte. Wir verwendeten in unserer Studie neben Cyclophosphamid, Cyclosporin A und Steroiden als zusätzliches Immunsuppressivum Mycophenolat Mofetil (MMF). Diese wird nach enteraler Absorption in Mycophenolsäure (MPS) hydrolysiert. MPS ist ein selektiver, reversibler, nicht-kompetitiver Antagonist der Iosin-Monophosphat-Dehydrogenase (IMPDH), einem Schlüsselenzym der de-novo Purinbiosynthese. Dies führt zu einem antiproliferativen Effekt, der sich stärker in Lymphozyten als in nicht-lymphatischen Zellen auswirkt. Durch seine im Gegensatz zu Cyclosporin A vorhandene direkte B-Zell-Wirksamkeit bei gleichzeitig gegenüber Cyclophosphamid reduzierter Toxizität (99) und erhöhter Selektivität (100) erscheint MMF ein insbesondere für die Xenotransplantation geeignetes Immunsuppressivum zu sein. Im Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass MMF erfolgreich die Bildung von natürlichen xenoreaktiven Antikörpern supprimiert (101). Eine durch Alлотransplantate induzierte Immunantwort zytotoxischer T-Lymphozyten wird im murinen Modell durch MMF dosisabhängig inhibiert (102). Klinisch scheint MMF daher auch zur Therapie refraktärer, akut zellulärer Abstoßungsreaktionen geeignet zu sein.

In der Studie wurde die Erhaltungstherapie mit MMF von den Transplantatempfängern gut vertragen. Der initiale Gewichtsverlust lässt sich durch das operative Trauma und die Effekte der Cyclophosphamid-Induktionstherapie (Diarrhoe, Emesis) erklären. Im Langzeitverlauf blieb das Körpergewicht jedoch konstant, die Tiere nahmen normal Nahrung und Flüssigkeit zu sich und befanden sich im guten Allgemeinzustand. Bei Behandlung von Abstoßungsepisoden mit Cyclophosphamid kam es wiederum zu Diarrhoe und Emesis, welche mit parenteraler Gabe von Metoclopramid bzw. Ondansetron therapiert wurden.

Wir versuchten somit zu erreichen, dass die immunsuppressive Therapie hoch genug dosiert ist, um die humorale Immunantwort ausreichend zu unterdrücken, gleichzeitig aber die maximale Dosis zur Induzierung von Nebenwirkungen nicht überschritten wird.

Bei dem von uns durchgeführten Schema der immunsuppressiven Therapie konnten wir andeutungsweise eine Zunahme der durch Immunsuppressiva induzierten Komplikationen

nach 10 Tagen erkennen, allerdings konnte zumeist eine humorale Immunantwort ohne induzierte Komplikationen verhindert werden.

Somit zeigte sich, dass die verwendete Dosierung eine wirksame begleitende Therapie bei Xenotransplantation darstellt, wobei auf interindividuelle Empfindlichkeit der Tiere bezüglich induzierter Komplikationen gewissenhaft Rücksicht genommen werden muß.

Wachstum transplantierte Schweineherzen

Laut Cooper zählen Schweine als aussichtsreichste Spezies, Organquelle für klinische Xenotransplantation zu werden, wenn die immunologischen Hindernisse dieser diskordanten Kombination überwunden werden können (93). Die kardiovaskulären und anatomischen Verhältnisse prädestinieren das Schwein als Herz-Spender (103). Da Hausschweine in kurzer Zeit ein erhebliches Wachstum aufweisen, stehen auch für Erwachsene ausreichend große Schweineherzen zur Verfügung. Innerhalb von 6 Monaten nimmt das Hausschwein 835% an Körpergewicht zu (104). Bei unseren Versuchen lag das Schweineherzgewicht bei Explantation zwischen 27 und 182 g, nach Beendigung der Versuche (55 bis 464 Minuten später) zwischen 34 und 218 g. Durchgeführte Studien legen den Schluß nahe, dass auch explantierte Schweineherzen im Empfänger weiter wachsen (105, 106). Zudem zeigen die in unseren Versuchen gemessenen Relationen von Herz- zu Körpergewicht, dass beim Schwein im Gegensatz zum Pavian (und auch zum Menschen) das Verhältnis erhöht ist (Körpergewicht zu Herzgewicht Relation: Affe: 0,47%, Schwein: 0,55%). Um eine annähernd identische Größe von Spender- und Empfängerherz zu erreichen, muß daher das Körpergewicht von kleinen Spenderschweinen 20 – 30% unter dem der Empfängerpaviane liegen.

„Ausreißer“ in der nicht-transgenen Gruppe

In der Literatur ist nahezu vollständig beschrieben, dass eine HAR bei einer Spezieskombination Schwein – Pavian unausweichlich eintritt (107). Dennoch gibt es vereinzelte Berichte, dass heterotop transplantierte, unmodifizierte Schweineherzen über mehrere Tage in Pavianen schlugen. Cooper et al. berichten über ein 5-tägiges Überleben unter Immunsuppression des Empfängers (108), Lin et al. beobachteten sogar ein Überleben von 15 Tagen (95). Des Weiteren wurden in zwei zusätzlichen Experimenten dieser Studie, in welcher die transplantierten Schweineherzen hyperakut abgestoßen wurden, Titer der PNAK

im Serum der Empfänger gemessen, welche doppelt bzw. viermal so hoch waren, wie bei dem Pavian, dessen Transplantatherz 15 Tage lang schlug.

Ähnliche Beobachtungen konnten wir auch in unseren Versuchen machen (PAV 3).

Dies lässt die Vermutung zu, dass der Pathomechanismus der HAR nicht einem Alles-oder-Nichts-Prinzip folgt, sondern dass mehrere Faktoren, die bislang noch nicht vollends geklärt sind, Einfluß auf die HAR haben (109).

Ethische Aspekte der Xenotransplantation

In Großbritannien hat die öffentliche Debatte über Xenotransplantation ein Verbot der Transplantation von Primatenorganen auf den Menschen zur Folge gehabt (110, 111). Die Verwendung von Schweineherzen wird im Gegensatz hierzu allerdings als ethisch akzeptabel erachtet, wenn die Spenderschweine gemäß den Bestimmungen des Tierschutzgesetzes gezüchtet werden (112). In Deutschland hat das Paul-Ehrlich-Institut im Februar 1998 eine Deutsche Arbeitsgemeinschaft Xenotransplantation ins Leben gerufen, an der sich alle interessierten Forscher beteiligen können. Sie bietet sowohl Diskussionsforen als auch Hilfe bei der Zusammenarbeit mit den gesetzgebenden Behörden und Ethikkommissionen an.

Infektionsrisiken

Die Risiken einer Infektion des Xenotransplantatempfängers mit Bakterien, Pilzen, Parasiten und Prionen können in klinisch akzeptablen Grenzen gehalten werden, wenn die Spenderschweine unter spezifisch pathogenfreien Bedingungen gehalten werden (93). Die größten Bedenken bestanden allerdings im Hinblick auf eine potentielle Übertragung von Viren auf Organempfänger, da u. U. eine ganze Anzahl von porcinen Viren noch gar nicht identifiziert wurde. Vor dem Beginn klinischer Studien sollten daher weitere Untersuchungen insbesondere auf dem Gebiet der bereits bekannten Viren einschließlich endogener Retroviren, des porcinen Cytomegalie- und Circovirus durchgeführt werden (110).

Verschiedene Arbeitsgruppen lenkten in der letzten Zeit die öffentliche Aufmerksamkeit auf porcine Retroviren. Sie wiesen nach, dass menschliche Zelllinien durch übertragene porcine Retroviren infiziert werden können (113). Zudem nimmt man an, dass durch Rekombination im Empfänger Retroviren replikationsfähig werden könnten, was zu einer Veränderung der Pathogenität führen würde (114).

Ein potentieller Empfänger eines Xenotransplantats, der verzweifelt auf eine Herztransplantation wartet, würde wohl das Risiko einer Infektion und Erkrankung in Kauf nehmen, dennoch bleiben Bedenken hinsichtlich der Gesundheitsbedrohung der Bevölkerung. Retroviren werden gewöhnlich über Blut bzw. Blutprodukte übertragen, und durch Geschlechtsverkehr. Daher könnte ein porciner Retrovirus auch zur Gefahr für das soziale Umfeld des Empfängers werden (115).

Schlußfolgerung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, herauszufinden, ob der technische Ablauf der Xenotransplantation von hDAF-transgenen Schweineherzen in Kombination mit Immunadsorption möglich ist. Zudem sollte ein verträgliches, aber wirksames Immunsuppressionsschema erarbeitet werden.

Das perioperative Management der Xenotransplantation ist aufwendig und kostspielig.

Um ein gut funktionierendes Ineinandergreifen der einzelnen Organisationsabschnitte zu gewährleisten, müssen die Räumlichkeiten vielen Kriterien entsprechen. Das bedeutet bei Etablierung der Xenotransplantation müssten Umbauten an den jeweiligen Lokalitäten durchgeführt werden. Damit fällt ein erheblicher finanzieller Aufwand an, der getragen werden muß.

Das direkte medizinische Management einer Xenotransplantation, die Logistik und Organisation, das Wissen und die Umsetzung dagegen könnten in der benötigten Form an den bisher bestehenden Transplantationszentren durchgeführt werden

Das Gewicht des kleinen Spenderschweines soll wegen der Wachstumstendenz um 20 – 30% geringer sein als das Körpergewicht des Empfängers.

Mit einer immunsuppressiven Kombinationstherapie bestehend aus Cyclophosphamid (zur Induktion), Cyclosporin A, Mycophenolat Mofetil und Steroiden wurde, in Verbindung mit Immunadsorption und hDAF-transgenen Schweineherzen, eine Überlebenszeit der orthotopen Transplantate von einer Stunde bis 20 Tage erzielt. Die Erhaltungstherapie mit CyA, MMF und Steroiden, sowie die Behandlung von Abstoßungsepisoden mit Cyclophosphamid, wurden von den Empfängerpavianen nur mit zahlreichen schweren Nebenwirkungen insgesamt toleriert.

Eine sichere und für den Organempfänger verträgliche Verhinderung der verzögerten Abstoßungsreaktion kardialer Xenotransplantate konnte mit dem untersuchten immunsuppressiven Kombinationstherapie-Schema allerdings noch nicht erzielt werden.

Weitere Studien müssen zeigen, inwiefern man die immunsuppressive Therapie verbessern und die HAR sicher verhindern kann, und somit die Xenotransplantation von Schweineherzen für die klinische Anwendung erschließbar wird.

Literaturverzeichnis

- 1) Taylor DO; Edwards LB; Mohacsi PJ; Boucek MM et al.
The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation:
Twentieth Official Adult Heart Transplant Report 2003
J Heart and Lung Transpl 2003; 22: 616
- 2) Ewans RW; Manninen DL; Garrison LP et al.
Donor availability as the primary determinant of the future of heart transplantation.
JAMA 1986; 255: 1892
- 3) Kemkes B.
Non-invasive assessment methods to detect rejection following cardiac
transplantation. In: Heart and heart-lung transplantation.
Wallwork J.W.B. Saunders Company Harcourt Brace Jovanovich Inc. Philadelphia/
London/ Toronto 1989; 299 - 312
- 4) Carrel A; Guthrie CC.
The transplantation of veins and organs.
Am Med 1905; 27: 1101
- 5) Mann FC; Priestley JT; Markowitz J et al.
Transplantation of the intact mammalian heart.
Arch Surg 1933; 26: 219
- 6) Marcus E; Wong SNT; Liusada AA.
Technique of interim parabiologic perfusion in transplantation in dogs.
Arch Surg 1953; 66: 179
- 7) Webb WR; Howards HS.
Restoration of function of the reperfused heart.
Surg Forum 1957; 8: 302

- 8) Kirklin JW; DuShane JW; Patrick RT et al.
Intracardiac surgery with the aid of a mechanical pump-oxygenator system (Gibbon type): Report of eighth cases.
Proc Staff Meet Mayo Clin 1955; 30: 201
- 9) Lillehei CW; Dewall RA; Read RC et al.
Direct vision intracardiac surgery in man using a simple disposable artificial oxygenator.
Dis Chest 1956; 29: 1
- 10) Demikhov VP.
Experimental transplantation of vital organs (Haigh B, Trans).
Consultans Bureau, New York 1962
- 11) Lower RR; Shumway NE.
Studies on the orthotopic homotransplantation of the canine heart.
Surg Forum 1960; 11:18
- 12) Lower RR; Dong EJ; Shumway NE.
Long-term survival of cardiac homografts.
Surgery 1965; 58: 110
- 13) Barnard CN.
The operation
S Afr Med J 1967; 41: 1271
- 14) Billingham ME.
Diagnosis of cardiac rejection by endomyocardial biopsy.
J Heart Transplant 1981; 1: 86
- 15) Billingham ME.
Endomyocardial biopsy detection of acute rejection in cardiac allograft recipients.
Heart and Vessels 1985; 1: 86

- 16) Hammer C.
Monitoring von Abstoßungsreaktionen
In Lawin P, Lehnhart FP, Peter K (Eds.) Organtransplantation heute.
Thieme, Stuttgart, 1990: 3
- 17) Borel JF.
Immunological properties of cyclosporin A.
J Heart Transplant 1982; 1: 237
- 18) Calne RY; Rolles K; White DJG et al.
Prolonged survival of pig orthotopic heart grafts treated with Cy A.
Lancet 1978; 1: 1183
- 19) Calne RY; Rolles K; White DJG et al.
Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs. 32 kidneys, 2 pancreases, 2 livers.
Lancet 1979; 2: 1033
- 20) Brendel W; Hammer C; Chaussy C.
Grundlagen und Ergebnisse xenogener Organtransplantation
Transplantationschirurgie, Springer Verlag 1981
- 21) Kemp E.
Xeno grafting – the future of organ transplantation
Odense University press 1978
- 22) Calne RY.
Organ transplantation between widely disparate species
Transplant Proc 1970; 2: 550
- 23) Chaussy C; Hammer C; v. Scheel J; Eisenberger F; Fielsticker K et al.
Experimental xenogeneic kidney transplantation in closely related species
Res exp Med 1973; 159: 266

- 24) Hammer C; Chaussy C; v. Scheel J; Pongratz H; Roscher E et al.
Survival times of skin and kidney graft within different canine species in relation to their genetic markers
Tranplant Proc 1975; 7: 439
- 25) Owen ER.
Xenograft protection by low-dose, antigen induced tolerance
Transplant Proc 1971; 3: 562
- 26) Reemtsma K; McCracken BH; Schlegel JU; Pearl MA; Pearce CW et al.
Renal heterotransplantation in man
Ann Surg 1964; 160: 384
- 27) Chaussy C; Hammer C; Eisenberger F; v. Scheel J; Land W et al.
Some aspects of the rejection of xenogeneic kidney transplants in different donor recipient combinations
7th Congress of the European Society for Experimental Surgery 1972
- 28) Moberg AW; Shons AR; Gewurz H; Mozes M; Najarian JS.
Prolongation of renal xenografts by the simultaneous sequestration of performed antibody, inhibition of complement, coagulation and antibody synthesis
Transplant Proc 1971; 3: 538
- 29) Hammer C; Land W; Pielsticker K; Brendel W.
Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speciesystemen
Res exp Med 1972; 159: 124
- 30) Hammer C; Land W; Brendel W.
Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speciesystemen
Res exp Med 1973; 159: 239
- 31) MCGregor CG; Jamieson SW; Oyer PE; Baldwin JC; Modry DL et al.
Heart transplantation at Stanford University
Heart Transplantation 1984; 4: 31

- 32) Jamieson SW; Burton NA; Bieber CP; Reitz BA; Oyer PE et al.
Cardiac-allograft survival in primates treated with cyclosporin A
Lancet 1979; 545
- 33) Merkel FK; Bier M; Beavrs CD; Merriman WG; Wilson C et al.
Modification of xenograft response by selective plasmapheresis
Transplant Proc 1971; 3: 534
- 34) Mozes MF; Gewurz H; Gunnarson A; Moberg AW; Westberg NG et al.
Xenograft rejection by dog and man: isolated kidney perfusion with blood and plasma
Transplant Proc 1971; 3: 531
- 35) Perper RJ; Najarian JS.
Experimental renal heterotransplantation
Transplantation 1966; 4: 377
- 36) Rosenberg JC; Hawkins E; Rector F.
Mechanisms of immunological injury during antibody-mediated hyperacute rejection
of renal heterografts
Transplantation 1971; 11: 151
- 37) Slapak M; Greenbaum M; Bardawil W; Saravis C; Joison J et al.
Effect of heparin, arvin, liver perfusion, and heterologous antiplatelet serum on
rejection of pig kidney by dog
Transplant Proc 1971; 3: 558
- 38) Chaussy C; Hammer C; v. Scheel J; Eisenberger F; Pielsticker K et al.
Experimental xenogeneic kidney transplantation in closely related species
Res exp Med 1973; 159: 266
- 39) Odgen DA; Sitprijia V; Holmes JH.
Function of the baboon renal heterograft in man and comparison with renal
homograft function
J Lab Clin Med 1965; 65: 370

- 40) Owen ER.
Prolonged survival in heterografted kidneys with transplantation antigen pretreatment
Nature 1968; 219: 970
- 41) Hitchcock CR; Kiser JC; Telander RL; Seljeskog EL.
Baboon renal grafts
JAMA 1964; 189: 934
- 42) Perper RJ; Najarian JS.
Experimental renal heterotransplantation – II. closely related species
Transplantation 1944; 4: 700
- 43) Reemtsma K; MCKracken BH; Schlegel JU; Pearl MA; De Witt CW et al.
Reversal of early graft rejection after renal heterotransplantation in man
JAMA 1964; 187: 691
- 44) Starzl TE; Marchioro TL; Peters GN; Kirkpatrick CH; Wilson WE et al.
Renal heterotransplantation from baboon to man: experience with 6 cases
Transplantation 1964; 2: 752
- 45) Caves PK; Billingham ME; Schulz WB; Dong E; Shumway NE.
Transvenous biopsy from canine orthotopic heart allografts
Am Heart J 1973; 85: 525
- 46) Unger E.
Nierentransplantationen.
Klin Wschr 1910; 47: 1910
- 47) Neuhof H.
The transplantation of tissues.
Appleton and Co., New York, 1923: 260

- 48) Reemtsma K; McCracken BH; Schlegel JU et al.
Renal heterotransplantation in man.
Ann Surg 1964; 160: 384
- 49) Eckart WV.
Geschichte der Medizin.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1991; 2. Auflage: 310
- 50) Hardy JD; Chavez CM, Kurrus FD et al.
Heart transplantation in man.
JAMA 1964; 188: 1132
- 51) Ross DN.
In: Experience with human heart transplantation.
Shapiro H (Ed.), Butterworths, Durban 1969; 227
- 52) Barnard CN; Wolpowitz A; Losman JG.
Heterotopic cardiac transplantation with a xenograft for assistance of the left heart in
cardiogenic shock after cardiopulmonary bypass.
S Afr Med J 1977; 52: 1035
- 53) Baily LL; Nehlsen-Cannarella SL; Concepcion W et al.
Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate.
JAMA 1985; 254: 3321
- 54) Starzl TE; Fung J; Tzakis A et al.
Baboon-to-human liver transplantation.
JAMA 1985; 254: 3321
- 55) Rose AG; Cooper DKC; Human PA.
Histopathology of hyperacute rejection of the heart: Experimental and clinical
observations in allografts and xenografts.
J Heart Lung Transplant 1991; 10: 223

- 56) Köhler H; Zanker B; Strom T.
Immunbiologie der Transplantatabstoßung und deren pharmakologische Beeinflussung.
Dtsch Med Wschr 1991; 116: 264
- 57) Forbes R; Guttmann R; Gomersall M; Hibberd J.
A controlled serial ultrastructural tracer study of first-set cardiac allograft rejection in the rat.
Am J Pathol 1983; 111: 184
- 58) Billingham M; Warnke R; Weissman I.
The cellulare infiltrate in cardiac allograft rejection in mice.
Transplantation 1977; 23: 171
- 59) Billingham M.
Some recent advances in cardiac pathology.
Human Pathol 1979; 10: 367
- 60) Rose A; Uys C; Losman J; Barnard C.
Evaluation of endomyocardial biopsy in the diagnosis of cardiac rejection. A study using biotome samples of formalin-fixed tissue.
Transplant 1978; 26: 10
- 61) Galili U; Shohet SB; Kobrin E; Stults CLM; Macher BA.
Man, apes, and old world monkeys differ from other mammals in the expression of α -galactosyl epitopes on nucleated Cells.
J Biol Chem 1988; 263: 17755-17762
- 62) Galili U; Swanson K.
Gene sequences suggest inactivation of α -1,3-galactosyltransferase in catarrhines after the divergence of apes from monkeys.
Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 7401-7404

- 63) Miyagawa S; Hirose H; Shirakura R; Naka Y; Nakata S et al.
The mechanism of discordant xenograft rejection.
Transplantation 1988; 46: 825-830
- 64) Platt JL; Fischel RJ; Matas AJ; Reif SA; Bolman RM et al.
Immunopathology of hyperacute xenograft rejection in a swine-to-primate model.
Transplantation 1991; 52: 214-220
- 65) Oyer PE; Stinson EB; Jamieson SW et al.
Cyclosporin in cardiac transplantation: a 2 ½ year follow up.
In: Kahan BD (Ed.). Cyclosporine; biological activity and clinical applications.
Grune and Stratton, New York 1983: 330
- 66) McKenzie FN; Stiller CR; Wall WJ et al.
Studies of canine heterotopic heart allograft treated with cyclosporin A.
Transplant Proc 1983; 15: 1244
- 67) White DJG.
Immunosuppression for cardiac transplantation.
In: Wallwork J (Ed.). Heart and heart-lung transplantation.
Saunders Company, Philadelphia 1989: 155
- 68) Kurlansky PA; Sadeghi AM; Robert E. et al.
Prolonged cardiac xenograft survival: A favourable comparison with allografts in primates.
Current Surgery 1986; Oct: 413
- 69) Borel JF; Feurer C; Gubler HU et al.
Biological effects of cyclosporine A: A new antilymphocytic agent.
Agents Actions 1976; 6: 468
- 70) Borel JF; Feurer C; Magnee C et al.
Effects of the new antilymphocyte peptide cyclosporine A in animals.
Immunology 1977; 32: 1017

- 71) Häyry P.
Immunosuppressive drugs.
In: Wood (Ed.). The handbook of transplant immunology
Hoffman-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen 1996: 138
- 72) Jonas S; Guckelberger O; Bechstein WO; Berg T; Muller AR et al.
Five-year follow-up of tacrolimus as primary immunosuppressant after liver transplantation.
Transplant Proc 1998; 30: 2179-2181
- 73) Forth W; Henschler D; Rummel W.
Pharmakologie und Toxikologie.
BI Wissenschaftsverlag, Mannheim 1987
- 74) Salaman JR.
Immunosuppressive therapy
MTP-Press, Lancaster, 1981
- 75) Salaman JR.
Steroids in organ transplant.
J Heart Transplant 1983; 2: 118
- 76) Schmoeckel M; Bhatti FNK; Zaidi A; Cozzi E; Waterworth PD et al.
Orthotopic heart transplantation in a transgenic pig to primate model.
Transplantation 1998; 65: 1570-1577
- 77) Brenner P; Hinz M; Huber H; Schmoeckel M; Reichenspurner H et al.
Influence of ischemic time on hyperacute xenograft rejection of pig hearts in a working heart perfusion model with human blood.
Transpl Int 2000;13(1): 494-503

- 78) Brenner P; Schmoeckel M; Reichenspurner H; Felbinger T; Hinz M; Rucker A et al.
Technique of immunoapheresis in heterotopic and orthotopic xenotransplantation of pig hearts into cynomolgus and rhesus monkeys.
Transplant Proc 2000; 32(5): 1087-1088
- 79) Schmoeckel M; Bhatti FNK; Zaigi A; Cozzi E; Pino-Chavez G et al.
Xenotransplantation of pig organs transgenic for human DAF: an update.
Transplant Proc 1997; 29: 3157-3158
- 80) Fukushima N; Bouchart F; Gundry SR; Nehlsen-Candarella S; Gusewitch G et al.
The role of anti-pig antibody in pig-to-baboon cardiac xenotransplant rejection.
Transplantation 1994; 57: 923-928
- 81) Miyagawa S; Shirakura R; Matsumiya G; Fukushima N; Nakata S et al.
Prolonging discordant xenograft survival with with anticomplement reagents K76COOH and FUT175.
Transplantation 1993; 55: 709-713
- 82) Fukushima N; Gundry SR; Matsumiya G; Bouchart F; Zuppan C et al.
Histological findings in heart grafts after orthotopic pig to baboon cardiac transplantation.
Transplant Proc 1996; 28: 788-790
- 83) Carrel A.
The surgery of blood vessels, etc.
Bull John Hopkins Hosp 1907; 18: 18-28
- 84) Mann FC; Priestley JT; Markowitz J; Yater WM.
Transplantation of the intact mammalian heart.
Arch Surg 1933; 26: 219-224
- 85) Abbott CP; de Witt CW; Creech O.
The transplanted rat heart: histologic and electrocardiographic changes.
Transplantation 1965; 3: 432-445

- 86) Ono K; Lindsey ES.
Improved technique of heart transplantation in rats.
J Thorax Cardiovasc Surg 1969; 57: 225-229
- 87) Cooper DKC.
Experimental development of cardiac transplantation.
Br Med J 1968; 4: 178
- 88) Jamieson SW; Burton NA; Reitz BA; Shummway NE.
A new method for heterotopic cardiac transplantation in the dog.
J Surg Res 1982; 32: 150-153
- 89) Michler RE; McManus RP; Smith CR; Sadeghi AN; Rose ER.
Technique for primate heterotopic cardiac xenotransplantation.
J Med Primatol 1985; 14: 357-362
- 90) Minanov OP; Kwiatkowski P; Popilskis S; Michler RE.
Modified technique for heterotopic heart transplantation in small primates.
Ann Thorac Surg 1997; 63: 258-260
- 91) Monden M; Valdivia LA; Gotoh M; Kubota N; Hasuike Y et al.
A crucial effect of splenectomy on prolonging cardiac xenograft survival in combination with cyclosporine.
Surgery 1989; 105: 535-542
- 92) Waterworth PD; Cozzi E; Tolan MJ; Langford G; Braidley P et al.
Pig-to-primate cardiac xenotransplantation and cyclophosphamide therapy.
Transplant Proc 1997; 29: 899-890
- 93) Cooper DKC; Ye Y; Rolf LL; Zuhdi N.
The pig as potential organ donor for man.
In: Cooper DKC; Kemp E; Reemtsma K; White DJG (Eds.): Xenotransplantation. The transplantation of organs and tissues between species.
Berlin Heidelberg, New York: Springer Verlag 1991: 481-500

- 94) Leventhal JR; John R; Fryer JP; Witson JC; Muller-Derlich J et al.
Removal of baboon and human antiporcine IgG and IgM natural antibodies by immunoadsorption.
Transplantation 1995; 59: 294-300
- 95) Lin SS; Kooyman DL; Daniels LJ; Daggett CW; Parker W et al.
The role of natural anti-Gal α 1-3Gal antibodies in hyperacute rejection of pig-to-baboon cardiac xenotransplants.
Transplant Immunol 1997; 5: 212-218
- 96) Calne RY; White DJG; Rolles K; Smith DP; Herbertson BM et al.
Prolonged survival of pig orthotopic heart grafts treated with cyclosporine A.
Lancet 1978; 1: 1183-1185
- 97) Roslin MS; Zisbrod Z; Burack JH; Tranbaugh RF; Strashun A et al.
15-day survival in pig-to-baboon heterotopic cardiac xenotransplantation.
Transplant Proc 1992; 24: 572-573
- 98) Schmoeckel M; Nollert G; Shahmohammadi M; Young VK; Chavez G et al.
Prevention of hyperacute rejection by human decay accelerating factor in xenogenic perfused working hearts.
Transplantation 1996; 62: 729-734
- 99) Platz KP; Sollinger HW; Hullet DA; Eckhoff DE; Eugui EM et al.
RS-61443 – a new, potent immunosuppressive agent.
Transplantation 1991; 51: 27-31
- 100) Ransom JT.
Mechanism of action of mycophenolate mofetil.
Ther Drug Monit 1995; 17: 681-684
- 101) Figueroa J; Fuad SA; Kunjummen BD; Platt JL; Bach FH.
Suppression of synthesis of natural antibodies by mycophenolate mofetil (RS-61443).
Transplantation 1993; 55: 1371-1374

- 102) Allison AC; Eugui EM.
Inhibitors of de novo purin and pyrimidin synthesis as immunosuppressive drugs.
Transplant Proc 1993; 3 (suppl. 2): 8-18
- 103) Swindle MM.
Porcine models in surgical research: an overview.
In: Tumbleson ME (Ed.): Swine in biomedical research.
Vol. 1. New York: Plenum Press 1986: 235-242
- 104) Pae WE; Myers JL; Waldhausen JA; Prophet GA; Pierce WS.
Subclavian flap angioplasty. Experimental study in growing piglets.
J Thorax Cardiovasc Surg 1981; 82: 922-927
- 105) Yang TS; Lin JH.
Variation of heart size and its correlation with growth performance and vascular space
in domestic pigs.
Animal Science 1997; 64: 523-528
- 106) Brutel de la Rivière A; Quaegebeur JM; Hennis PJ; Brutel de la Rivière G; Huysmans
HA et al.
Growth of an aorto-coronary anastomosis.
J Thorac Cardiovasc Surg 1993; 86: 393-399
- 107) Auchincloss H.
Xenogeneic Transplantation.
Transplantation 1988; 46: 1-20
- 108) Cooper DKC; Human PA; Lexer G; Rose AG; Rees J et al.
Effects of cyclosporine and antibody adsorption on pig cardiac xenograft survival in
the baboon.
J Heart Transplant 1988; 7: 238-246

- 109) Hammer C.
Performed natural antibodies and possibility of modulation of hyperacute xenogeneic rejection.
Transplant Proc 1989; 21: 522-523
- 110) The advisory group on ethics of xenotransplantation. Animal Tissue into Humans.
London: Department of Health 1997
- 111) Kennedy I.
Xenotransplantation : Ethical acceptability.
Transplant Proc 1997; 29: 2729-2730
- 112) Nuffield Council on Bioethics. Animal to Human Transplants: The Ethics of Transplantation.
London: Nuffield Council on Bioethics 1996
- 113) Patience C; Takeuchi Y; Weiss RA.
Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs.
Nature Med 1997; 3: 282-286
- 114) Smith DM.
Endogenous retroviruses in xenografts.
N Engl J Med 1993; 328: 142-143
- 115) Allan JS.
Silk purse or sow's ear.
Nature Med 1997; 3: 275-276

Anhang

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. B. Reichart für die Überlassung des interessanten Themas und die optimale Betreuung und Förderung meiner wissenschaftlichen und klinischen Ausbildung.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer möchte ich für die freundliche Betreuung und tatkräftige Unterstützung des Projekts von Seiten des Instituts für Chirurgische Forschung danken.

Herrn Prof. Dr. med. K. Messmer möchte ich für die Möglichkeit danken, die Arbeit am Institut für Chirurgische Forschung durchzuführen.

Ausdrücklich möchte ich mich bei Herrn PD Dr. med. Paolo Brenner bedanken, der mir als Betreuer und direkter Ansprechpartner mit Rat und Tat zur Seite stand, und bei Prof. Dr. med. H. Reichenspurner und PD. Dr. med. M. Schmöckel, ohne die dieses Projekt nicht durchführbar gewesen wäre.

Desweiteren möchte ich meinen Studien- und Teamkollegen V. Eder, S. Kriegeskorte, C. Wimmer, H. Huber und Dr. med. M. Hinz für den unermüdlichen Einsatz danken.

Zuletzt möchte ich mich bei Nicole Kotzias für den Rückhalt und die Unterstützung bedanken.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Rucker
Vorname: Alexander Bernd
Geburtsdatum, -ort: 01.12.1974, München
Anschrift: Tannenstrasse 78
85640 Putzbrunn
Familienstand: ledig

Schulbildung

09/ 1981 – 07/ 1985 Grundschohle in München
09/ 1985 – 07/ 1994 Werner-v.-Siemens Gymnasium, München
Abschluss: Abitur

Zivildienst

08/ 1994 – 10/ 1995 Johanniter-Unfall-Hilfe, Ottobrunn
Ausbildung zum Rettungssanitäter, Ausbilder Stufe
2

Hochschulbildung

11/ 1995 – 12/ 2001 Ludwig-Maximilians-Universität München,
Studiengang Humanmedizin
Teilnahme am Bildungsprogramm Munich-
Harward-Alliance der LMU München
08/ 1997 Ärztliche Vorprüfung
08/ 1998 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
08 – 10/ 1999 Famulatur am Medical Center of Hillcrest,
University of San Diego, USA, Division of
Cardiothoracic Surgery, Prof. Jamieson
08/ 2000 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/ 2000 – 10/ 2001 Praktisches Jahr:
1. Terzial: Groote Schuur Hospital, University of
Cape Town, SA, Division of Cardiothoracic
Surgery, Prof. Zilla
2. Terzial: KH Neuperlach, interdisziplinäre
gastroenterologische Abteilung für
Darmerkrankungen, Prof. Schmitt
3. Terzial: Univ.-Klinik der LMU München, Institut
für klinische Radiologie, Prof. Reiser

12/ 2001

3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Gesamtnote: gut

Promotion

12/ 1997 – 12/ 2000

Xenotransplantation von hDAF-transgenen
Schweineherzen auf Paviane, Herzchirurgische
Klinik Großhadern, Prof. Reichart, in
Zusammenarbeit mit dem Institut für Chirurgische
Forschung Großhadern, Prof. Messmer
Unterstützt von der Bayer. Forschungsstiftung

Werdegang

04/ 2002 – aktuell

Chirurgische Klinik der LMU-München –
Innenstadt
Direktor: Prof. W. Mutschler

Putzbrunn, den 01.02.2005

Alexander B. Rucker