

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik, Klinikum Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Karl-Walter Jauch)

und dem

Walter-Brendel-Zentrum für Experimentelle Medizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med. Ulrich Pohl)

Wirkung von L-Arginin auf die Funktion vorgeschädigter Spender-Lungen nach Transplantation

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

vorgelegt von
Hans Ullrich Ebersberger
aus Frankfurt a.M.

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. F. Löhe
Prof. Dr. med. O. Eickelberg

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. G. Eißner
Priv.-Doz. Dr. med. D. Irnich

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dr. med. G. Preissler

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 10.06.2010

1	Einleitung.....	5
1.1	Vorwort.....	5
1.2	Geschichte der Lungentransplantation.....	5
1.3	Indikationen zur Lungentransplantation	6
1.4	Spenderkriterien bei Lungentransplantation	7
1.5	Organmangel.....	9
1.6	Primäre Transplantatdysfunktion.....	11
1.7	Hämorrhagischer Schock und Resuscitation	13
1.8	Pathophysiologie des Ischämie-Reperfusionsschadens (IRS) der Lunge.....	15
1.9	L-Arginin / NO-Pathway	16
1.10	Gabe von L-Arginin während Lungentransplantation	18
2	Fragestellung	20
3	Material und Methoden.....	21
3.1	Versuchstiere.....	21
3.2	Anatomie der Lunge des Hausschweins	21
3.3	Versuchsanordnung.....	22
3.4	Prämedikation und Narkoseführung	25
3.5	Beatmung	26
3.6	Präparation am Spender	26
3.7	Hämorrhagischer Schock und Resuscitation (HSR) beim Spender.....	28
3.8	Operatives Vorgehen bei der Transplantation	29
3.8.1	Pneumonektomie beim Empfänger.....	29
3.8.2	Transplantation	30
3.9	Gemessene Parameter	30
3.9.1	Zeitlicher Ablauf der Messungen.....	31
3.9.2	Blutbildanalyse	32
3.9.3	Hämodynamische Parameter	33
3.9.4	Pulmonaler Gasaustausch	33
3.9.5	Lungencompliance.....	34
3.9.6	Untersuchung von Gewebeproben und bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit (BALF).....	35
3.9.6.1	Feucht- /Trockengewichtsquotient.....	35
3.9.6.2	Transplantat-Gewichtszunahme.....	35
3.9.6.3	Histologie.....	35
3.9.6.4	Quantifizierung des Gewebeschadens	36
3.9.6.5	Bestimmung der Myeloperoxidasekonzentration (MPO).....	36
3.9.6.6	Bronchoalveoläre Lavage	37
3.9.6.6.1	Zelldifferenzierung der BALF	37
3.9.6.6.2	Bestimmung des oxidativen Burst von Leukozyten und Alveolarmakrophagen.....	37
3.9.6.6.3	Thiobarbitursäure reaktive Substanzen Assay (TBARS)	38
3.9.6.6.4	Bestimmung der Laktat- Konzentration und des Kaliumgehaltes	39
3.9.6.6.5	Bestimmung der Eiweißkonzentration.....	39
3.10	Statistik	39
4	Ergebnisse	40
4.1	Entzogenes Blutvolumen zur Induktion des hämorrhagischen Schocks beim Spender	40
4.1.1	Makrohämodynamik beim Spender.....	40
4.1.2	Gasaustausch und Lungenfunktion	43
4.1.3	Hämoglobin- und Leukozytenkonzentration	45
4.2	Untersuchungsergebnisse Transplantatlunge.....	46

4.2.1	Makrohämodynamik beim Empfänger	46
4.2.2	Gasaustausch.....	49
4.2.3	Pulmonale Hämodynamik.....	50
4.2.4	Lungencompliance und Beatmungsdruck.....	51
4.2.5	Feucht/Trockengewichtsquotient und absolute Gewichtszunahme	53
4.2.6	Inflammatorische Reaktion im alveolären Kompartiment (BALF- Analyse)	54
4.2.7	Inflammatorische Reaktion im Lungengewebe	57
4.3	Untersuchungsergebnisse Nativlunge	60
4.3.1	Systemische Hämodynamik.....	60
4.3.2	Gasaustausch.....	62
4.3.3	Pulmonale Hämodynamik.....	64
4.3.4	Lungencompliance und Beatmungsdruck.....	65
4.3.5	Feucht/Trockengewichtsquotient	67
4.3.6	Inflammatorische Reaktion im alveolären Kompartiment (BALF).....	67
4.3.7	Inflammatorische Reaktion im Lungengewebe	71
4.3.8	Analyse der explantierten Spenderlungen (KL) nach hypothermer Konservierung	73
5	Diskussion	76
5.1	Diskussion des experimentellen Modells.....	76
5.2	Vorschädigung der Spenderlunge durch hämorrhagischen Schock und Resuscitation	77
5.3	Transplantatfunktionen	79
5.3.1	Effekte auf Hämodynamik und Transplantatfunktion	79
5.3.2	Effekte auf das mikrovaskuläre Endothel der Lunge.....	80
5.3.3	Effekte auf die Leukozytenrekrutierung	81
5.3.4	Effekte auf die Radikalentstehung	81
5.3.5	Effekte auf die Nativlunge	82
5.4	Zusammenfassung.....	83
6	Literaturverzeichnis	85
7	Abkürzungen	94
8	Danksagung	96
9	Lebenslauf.....	97

1 Einleitung

1.1 Vorwort

Im Vergleich zur Transplantation anderer solider Organe haben Patienten nach Lungentransplantation sowohl in der frühen postoperativen Phase als auch im weiteren Verlauf ein deutlich höheres Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko (1). Besonders das primäre Transplantatversagen gehört noch immer zu den schwerwiegenden postoperativen Komplikationen (2). Daneben stellt der Mangel an geeigneten Spenderorganen ein zentrales Problem dar (3). Das Ziel dieser Studie war es durch neue Therapiestrategien eine Verbesserung der postoperativen Transplantatfunktion zu erreichen und die Einbeziehung von Spenderorganen nach erweiterten Spenderkriterien zu ermöglichen (Tab. 3).

1.2 Geschichte der Lungentransplantation

Die erste menschliche Lunge wurde 1963 transplantiert (4;5). Der Patient verstarb jedoch am 18. postoperativen Tag im terminalen Nierenversagen. Bei der Obduktion fand sich ein unauffälliges Transplantat.

Grundlagen für die Transplantation solider Organe, einschließlich der komplizierten Gefäßanastomosierung im Thorax, wurden bereits früher gelegt und nach der ersten, tierexperimentellen, heterotopen Herztransplantation 1912 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet (6). Diese Pionierleistung war nur aufgrund jahrelanger Tierversuche möglich.

Die in den Jahren 1963 bis 1982 durchgeführten Lungentransplantationen beim Menschen blieben erfolglos, denn ohne Immunsuppression überlebten die Patienten die postoperative Phase nicht. Dank einer sorgfältigen Spenderauswahl, verbesserter Anastomosentechnik, und dem Einsatz von Cyclosporin A, ein Calcineurin inhibierendes Immunsuppressivum, gelang 1986 die erste Lungentransplantation beim Menschen (5;7;8).

1.3 Indikationen zur Lungentransplantation

Nach den international anerkannten Richtlinien der American Thoracic Society kommen nur respiratorisch insuffiziente, dauerhaft sauerstoffpflichtige, Patienten für eine Lungentransplantation in Frage, bei denen alle konservativen Therapiemöglichkeiten ausgeschöpft sind und eine Lebenserwartung von weniger als zwei Jahren resultiert (9). Die Lungentransplantation ist daher die Therapie der Wahl bei chronischen Lungenerkrankungen im Endstadium (10;11). In Abhängigkeit vom Schweregrad und Art der Lungenerkrankung werden beide Lungenflügel transplantiert. Indikation für die Einzellungentransplantation sind idiopathische Fibrosen, alpha1- Antitrypsinmangel und Lungenemphyseme (12).

Doppellungentransplantationen werden hingegen hauptsächlich bei Mukoviszidose und Bronchiektasien durchgeführt, da wegen der chronischen Besiedlung mit Keimen nur so eine Infektsanierung möglich ist. Weitere Indikationen zur Einzel- bzw. Doppel-Lungentransplantation sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Übersicht zu den Indikationen zur Lungentransplantation nach Trulock (1).

Diagnose	ELT (N = 6663)	DLT (N = 6789)	TOTAL (N = 13452)
COPD/Emphysem	3511 (53,0%)	1636 (24,0%)	5147 (13)
Idiopathische Fibrose	1731 (26,0%)	813 (12,0%)	2544 (19,0%)
Zystische Fibrose	159 (2,4%)	2009 (30,0%)	2168 (16,0%)
Alpha-1 Antitrypsinmangel	446 (7,0%)	597 (8,8%)	1063 (7,9%)
Prim. pulmonaler Hypertonus	64 (1,0%)	461 (6,8%)	525 (4)
Sarkoidose	141 (2,1%)	195 (2,9%)	336 (2,5%)
Bronchiektasien	25 (0,4%)	328 (6)	353 (2,6%)
Kongenitale Herzfehler	13 (0,2%)	115 (1,7%)	128 (1,0%)
Andere	499 (7,5%)	547 (8,1%)	1046 (7,7%)

1.4 Spenderkriterien bei Lungentransplantation

Die Transplantatfunktion hängt entscheidend von der Auswahl eines geeigneten Spenderorgans ab. Die Qualität des Spenderorgans wird anhand der Spenderanamnese, dem makroskopischen Untersuchungsbefund der Spenderlunge zum Zeitpunkt der Entnahme, der arteriellen Blutgasanalyse, der Röntgen-Thorax-Aufnahmen, der Bronchoskopiebefundung und der arteriellen Blutgasanalyse bestimmt. Von de Perrot (2) wurden die Standard-Lungen-Spenderkriterien zusammengestellt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Standard-Spenderkriterien

• Blutgruppe	• Identisch
• Alter des Organspenders	• < 55 Jahre
• Anamnese	<ul style="list-style-type: none"> • Kein Thoraxtrauma • Minimaler Nikotinkonsum (< 20 "pack years") • Mechan. Ventilation < 48 Stunden • Kein Asthma
• paO_2 bei FiO_2 1,0 (PEEP 5 cmH_2O)	• > 300 mmHg
• Bronchoskopie	• Kein Hinweis auf purulentes Sekret
• Thorax-Röntgenbild	• Kein Infiltrat
• Ischämiezeit	• 6 – 8 Stunden

Trotz der strengen Spenderkriterien liegt die 5-Jahres-Überlebensrate bei den in den letzten 12 Jahren durchgeführten Lungentransplantationen unter 50 % (2).

Neben der akuten, in der Frühphase nach Transplantation auftretenden Transplantatdysfunktion, tragen vor allem Komplikationen wie Organabstoßung, Infektionen und Bronchiolitis obliterans maßgeblich zu den ungünstigen Überlebenszeiten bei.

Als Kontraindikationen für eine Lungentransplantation gelten (14):

- Ein maligner Prozess in den letzten 2 Jahren, mit Ausnahme des Basalioms und des Spindelzellkarzinoms der Haut
- Nicht behandelbare, fortgeschrittene Dysfunktion eines weiteren Organsystems (z.B. Herz, Leber, Niere)
- HIV-Infektion
- Hepatitis C mit einer durch Biopsie gesicherten Leberschädigung (Fibrose, Leberzirrhose)
- Signifikante Thorax- oder Wirbelsäulendeformitäten
- Nicht behandelbare psychologische oder psychiatrische Erkrankungen, welche mit einer reduzierten Compliance einhergehen
- Alkohol-, Tabak-, oder Medikamentenabusus innerhalb der letzten 6 Monate

1.5 Organmangel

Obwohl die Zahl der in Deutschland durchgeführten Lungentransplantationen steigt, nimmt die Zahl der auf eine Transplantation wartenden Patienten stetig zu (15). Die Ursache hierfür ist der Mangel an Spenderorganen, nicht nur in Deutschland, sondern auch international (1). Abb. 1 gibt eine Übersicht zur Frequenz der in Deutschland in den Jahren 1998 bis 2007 vorgenommenen Lungentransplantationen im Vergleich zur Anzahl der Neuanmeldungen für diesen Eingriff. Die Diskrepanz zwischen Angebot und Nachfrage ist deutlich erkennbar.

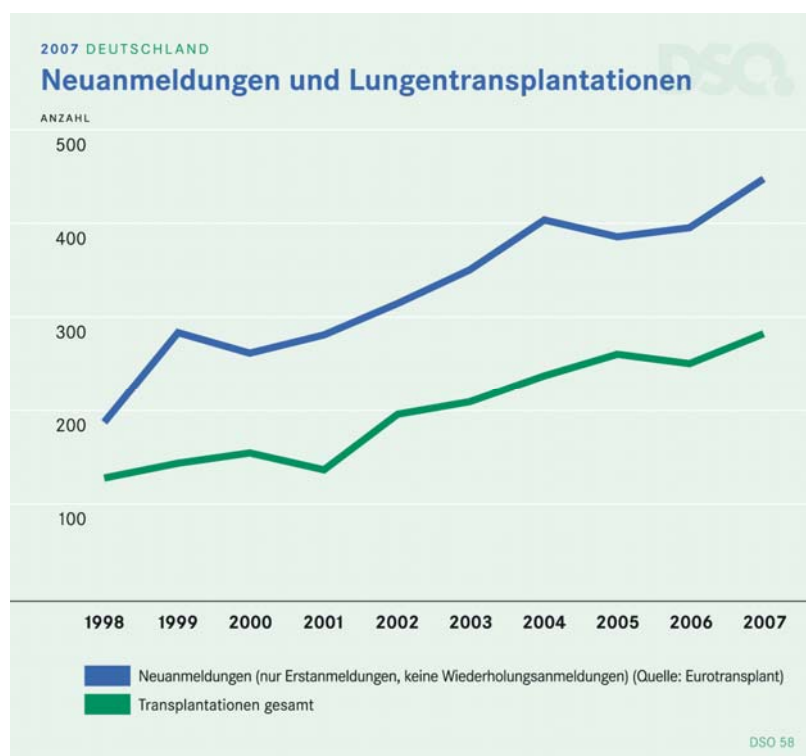


Abbildung 1: Neuanmeldungen und Lungentransplantationen in Deutschland (Deutsche Stiftung für Organtransplantation, 2007).

Die Folge ist, dass ein großer Teil der auf der Warteliste stehenden Patienten vor Zuteilung einer Spenderlunge verstirbt (16). Die Letalität bezogen auf 12 Monate Wartezeit liegt bei 19 % (17). Ursache des Organmangels ist vor allem die fehlende Spendebereitschaft in der Bevölkerung (18). Zur Verbesserung der Situation wird eine erweiterte Aufklärung der Bevölkerung und eine Ausweitung der Spenderkriterien diskutiert (18), wobei die in Tabelle 3 vorgestellten Kriterien ins Feld geführt werden.

Tabelle 3: Erweiterte Spenderkriterien nach de Perrot (2).

• Blutgruppe	• Kompatibel
• Alter des Organspenders	• > 55 Jahre
• Anamnese	<ul style="list-style-type: none"> • lokalisiertes Thoraxtrauma • erhöhter Nikotinkonsum (> 20 "pack years") • mechan. Ventilation > 48 Stunden • kein Asthma
• paO_2 bei FiO_2 1,0 (PEEP 5 cmH_2O)	• < 300 mmHg
• Bronchoskopie	• Sekrete sichtbar
• Thorax-Röntgenbild	• lokalisierte Abnormalitäten
• Ischämiezeit	• > 6 – 8 Stunden

Neben verschiedenen Ansätzen, wie z.B. Tissue Engineering (19) und Xenotransplantation (20), die sich jedoch noch in der experimentellen Phase befinden, kommt vor allem eine Erweiterung des Spenderpools zur Behebung des Organmangels in Frage. Ein Ansatz die Anzahl der Spenderorgane zu erhöhen, ist die Lebendspende, die bei Leber und Niere gute Resultate erbrachte (21). Aufgrund der hohen Komplikationsraten von bis zu 61 % bei Lebendspendern für Lungentransplantationen, unabhängig von der Seite des entfernten Lungenlappens, ist diese Methode aktuell nur bedingt einsetzbar (22).

Durch die Verwendung von optimierten Konservierungsverfahren konnte zwar eine verbesserte Ischämietoleranz der Transplantate, und so mehr Zeit für ein besseres Matching erreicht werden, doch löste dies nicht das große Problem des Organmangels (23). Eine effektive Strategie zur Erweiterung des Spenderpools ist die Abschwächung der Spenderkriterien (15) bzw. die Verwendung von marginalen Organen, welche die bisher geforderten Voraussetzungen nicht, oder nur teilweise erfüllen (3).

Potentielle Organspender sind häufig Traumapatienten (Abb. 2), die vor Explantation einer Phase der Hypotension durch Blutverlust ausgesetzt waren. Durch hämorrhagischen Schock und Resuscitation können bei diesen Patienten bereits Veränderungen an der Lunge eintreten, die eine Einschränkung des Gasaustausches nach sich ziehen. Auf Grund der strengen

Spender-Kriterien kommt diese Patientengruppe aktuell für eine Organspende nicht in betracht. Bleiben die Veränderungen durch Schock und Resuscitation subklinisch und unbemerkt, kann dies jedoch zum Zeitpunkt der Transplantation zu schweren Komplikationen, wie dem primären Transplantatversagen führen.

Mehrere Arbeitsgruppen untersuchen zur Zeit die Auswirkung einer Lockerung von Spenderkriterien auf die Mortalität der Empfänger (24-26). Falls es durch neue Therapieoptionen möglich wäre, diese Organe zu nutzen, wäre dies ein großer Fortschritt für die Lungen-Transplantationsmedizin.

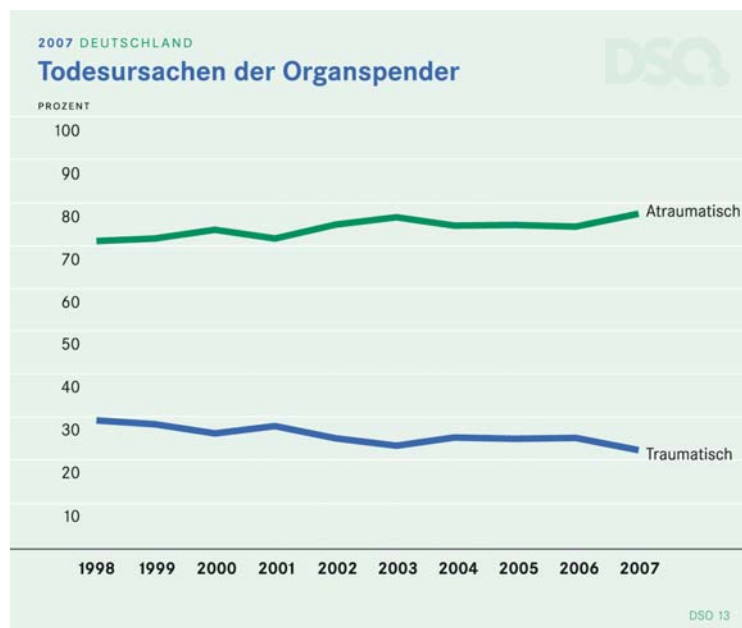


Abbildung 2: Todesursache von Organspendern in Deutschland (Deutsche Stiftung für Organtransplantation, 2007).

1.6 Primäre Transplantatdysfunktion

Perioperative Komplikationen führen zu einer hohen Sterblichkeit nach Lungentransplantation. Besonders die primäre Transplantatdysfunktion schränkt das Überleben nach Lungentransplantation ein (1;2;5;27-29). Entsprechend zeigt sich in der Überlebenskurve (Abb. 3) vor allem in den ersten 3 Monaten nach Lungentransplantation ein steiler Abfall auf 80%.

Bei Verwendung marginaler Organe steigt dieses Risiko gerade für akute, postoperative Komplikationen, wie die primäre Transplantatdysfunktion. Klinische Kriterien für eine primäre Transplantatdysfunktion entsprechend der Amerikanisch-Europäischen Konsensuskonferenz

von 1994 (30) sind:

- Auftreten innerhalb von 72 Stunden nach Transplantation
- Lungenödem nicht kardialer Genese (PAWP < 18 mmHg)
- Diffuse Infiltrationen auf der Röntgenthorax-Aufnahme
- $\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2 < 200$ mmHg.

Werden die Lungen mit primärer Transplantatdysfunktion histologisch untersucht, findet man das Bild eines diffusen Alveolarschadens mit interstitiellem und alveolärem Ödem, Deckzeldesquamation, Zellnekrosen, Endothelschaden und Leukozytenadhäsionen (31).

Die primäre Transplantatdysfunktion tritt in 30% aller transplantierten Lungen auf und stellt damit eine ernst zu nehmende Komplikation dar (32). Zwar ist sie potentiell reversibel, kann aber bei Ausbildung eines ARDS-ähnlichen Krankheitsbildes zu einer Letalität von bis zu 40% führen (28;29). Dagegen liegt die Letalität transplantierte Lungen ohne primäre Transplantatdysfunktion bei 12% (29).

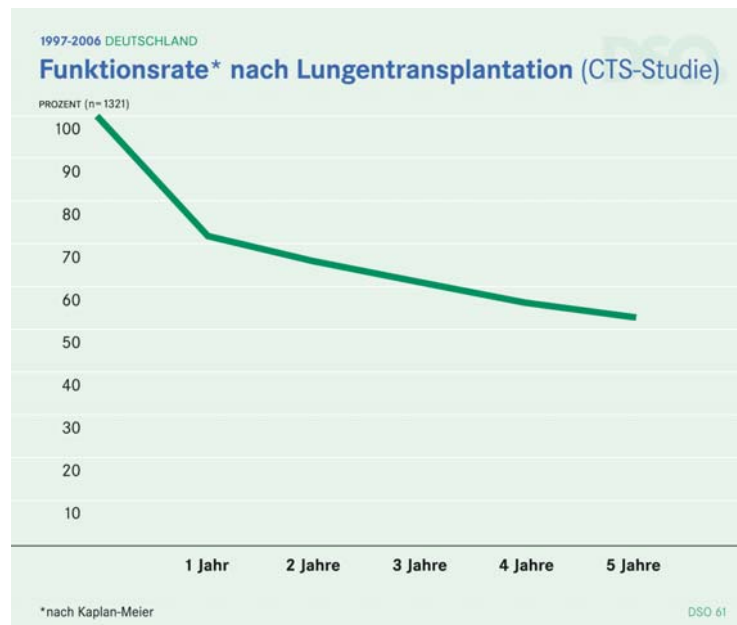


Abbildung 3: 5-Jahres Funktionsrate nach Lungentransplantationen (Deutsche Stiftung für Organtransplantation, 2007).

Ursächliche Faktoren für die Entstehung einer primären Transplantatdysfunktion sind:

- Das chirurgische Trauma der Explantation
- Die Ausbildung von Atelektasen in der Transplantatlunge während der Lagerung
- Unphysiologische Temperaturschwankungen während der Konservierung der Transplantatlunge
- Eine hypotensive Kreislaufsituation des Spenders, z.B. im Rahmen eines hämorrhagischen Schocks mit nachfolgender Mikrozirkulationsstörung
- Lange Ischämiezeiten

Eine weitere Gefahr für die Transplantatlunge ist die Reimplantationsreaktion, die auch nach Autotransplantation, ohne wesentliche Ischämie der Lunge beobachtet wird. Die Ursache ist wahrscheinlich die Unterbrechung der lymphatischen Drainage und die Denervation des Lungenhilus (33-35). In dieser Situation lassen sich alveoläre Verdichtungen auf dem Röntgenbild vor allem zentral und perivaskulär verbunden mit einem erniedrigten alveoloarteriellen Sauerstoffgradienten beobachten (35). Die beschriebenen Veränderungen können sofort nach Transplantation auftreten und erreichen ein Maximum am 3. postoperativen Tag (35). Die Reimplantationsreaktion ist reversibel, sodass die Prognose als gut bezeichnet wird (33;36).

1.7 Hämorrhagischer Schock und Resuscitation

Ein Schock ist im medizinischen Sprachgebrauch eine Störung des Gleichgewichts zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf der lebenswichtigen Organe. Der Schock wird je nach vorliegendem Pathomechanismus nach Weil in vier Hauptkategorien unterteilt: Hypovolämie (Hämorrhagie, Verbrennung), kardiogen (Pumpversagen nach Myokardinfarkt oder Myokardkontusion), obstruktiv (Lungenembolie, Perikardtamponade) und distributiv (Sepsis, Anaphylaxie). Zur Abschätzung der Kreislaufsituation der Patienten wurde von Allgöwer et al. ein Schockindex entwickelt (37). Dieser ist definiert als Quotient aus Herzfrequenz und systolischem Blutdruck: $\text{Schockindex} = \text{HF}_{\text{pro Minute}} / \text{RR}_{\text{syst. [mmHg]}}$.

Tabelle 4: Schockindex nach Allgöwer.

Quotient Puls/RR	Bewertung	Geschätzter Blutverlust
0,5	Normal	< 10 %
1,0	drohender Schock	< 20 – 30 %
1,5	manifeste Schock	> 30 – 50 %

Der Schockindex erlaubt keine zuverlässige Beurteilung der klinischen Situation des Patienten und wird mittlerweile von Fachkreisen als obsolet angesehen. Aufgrund der einfachen Anwendbarkeit ist der Schockindex im klinischen Alltag dennoch gebräuchlich.

Der traumatisch-hämorrhagische Schock ist die häufigste Schockform nach Verkehrsunfällen. Hierbei kommt es neben einem Gewebstrauma zu einem erheblichen Blutverlust. Eine Aktivierung physiologischer Kompensationsmechanismen zur Aufrechterhaltung der Sauerstoffversorgung lebenswichtiger Organe ist die Folge. Bei Persistenz der Hämorrhagie ohne adäquate Therapie, kommt es aufgrund des protrahierten Volumenmangels und der Zentralisation des Kreislaufs zu einem Zirkulationsversagen. Durch das Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und –bedarf, kommt es beim hämorrhagischen Schock zu makrohämodynamischen Veränderungen mit konsekutiv zunehmender Mikrozirkulationsstörung und Ausbildung einer low-flow Ischämie (38). Durch die proinflammatorische Aktivierung des Komplementsystems, von Leukozyten und dem Endothel sowie die Ausschüttung vasoaktiver Mediatoren kommt es zu einer Zunahme des Gefäßtonus mit Erhöhung des pulmonal vaskulären Widerstandes. Durch eine verstärkte Leukozyten-Endothel Interaktion mit Akkumulation von Granulozyten am Lungenendothel kann es zu einer weiteren Beeinträchtigung der pulmonalen Funktion kommen (39). In der Folge resultiert das sogenannte capillary-leak Syndrom, wobei es durch Zunahme der Gefäßpermeabilität zu einem Flüssigkeitsabstrom in das Interstitium mit Entstehung eines Gewebsödems und Verschlechterung der Oxygenierung kommt (40).

1.8 Pathophysiologie des Ischämie-Reperfusionsschadens (IRS) der Lunge

Der Ischämie-Reperfusionsschaden (IRS) nach Lungentransplantation unterscheidet sich von dem anderer solider Organe nach Transplantation. Durch Explantation von Lungen in geblähten Zustand (Abb.4) werden die Lungen auch während der Konservierungsphase mit Sauerstoff versorgt, es resultiert eine sogenannte „oxygenierte Ischämie“ (41).

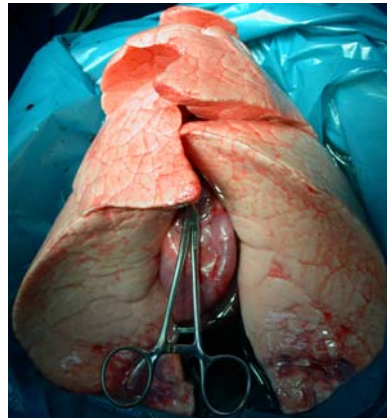


Abbildung 4: Explantierte Lunge in Inspirationsstellung.

Dies hat bedeutenden Einfluss auf die Pathophysiologie des IRS bei der Lungentransplantation. Während es bei anderen Organen hypoxiebedingt zu einer Verminderung von ATP während der Konservierungsphase kommt (42), konnten die Arbeitsgruppen um Date und Loehe einen erhaltenen aeroben Stoffwechsel auch nach 24 Stunden hypothermer Lagerung, der mit Sauerstoff geblähten Lungen, nachweisen (18;43). Es zeigten sich stabile Werte von AMP, ADP und ATP, was vor allem durch die Versorgung des Lungenparenchyms mit Sauerstoff nach Beendigung der pulmonalen Perfusion zu erklären ist (18).

Durch die Sauerstoffinsufflation vor Explantation wird zwar einerseits der Energiestoffwechsel im Lungenparenchym aufrecht erhalten, andererseits können aber auch reaktive Sauerstoffmetaboliten (ROS) wie OH^\cdot , O_2^\cdot und H_2O_2 schon während der Ischämie, durch beispielsweise Endothelzellen und Alveolarmakrophagen, freigesetzt werden (44). Neben der vermehrten Lipidperoxidation im Gewebe kommt es durch die Reaktion der Radikale mit Stickstoffmonoxid (NO) nach Reperfusion zu einer sofortigen Abnahme der NO-Konzentration und damit, durch Verlust der cGMP vermittelten Gefäßrelaxation, zum Anstieg des pulmonalvaskulären Widerstands sowie zu einer vermehrten Leukozyten- und Thrombozytenadhäsion (10;45-48). Die Folge ist eine Verschlechterung der Mikrozirkulation des Transplantates mit

Abnahme des pO_2 . Trotz der günstigeren Energiebilanz im Gewebe während Konservierung, resultiert bei Lungen daher insgesamt ein stärkerer IRS im Vergleich zu anderen Organen wie Leber oder Niere, was ihre kürzere Ischämietoleranz erklärt.

Ferner kommt es nach Reperfusion zur verstärkten Bildung von Sauerstoffradikalen aus Leukozyten über das NADPH Oxidase-System sowie zur Aktivierung von Adhäsionsmolekülen am Endothel (49). Die hieraus resultierende direkte Schädigung des Endothels hat die beschriebene Erhöhung der alveolo-kapillären Permeabilität zur Folge. Dies konnte experimentell bereits 30 Minuten nach Reperfusion nachgewiesen werden (50). Die darauf folgende Verschiebung von intravasalem, freiem Wasser in das Interstitium und die Alveolen kann durch Hämokonzentration mit Erhöhung der Blutviskosität bis hin zum „capillary plugging“ eine kapilläre Minderperfusion erwirken (51). Zusammen mit der Verschiebung des pH-Wertes in den sauren Bereich, kann dies zu einem primären Reperfusionsversagen nach Freigabe der Organdurchblutung führen („no-reflow“ Phänomen) (49). Durch zunehmendes, interstitielles Ödem und die Aktivierung der zellulären und plasmatischen Gerinnung, mit der Folge von Mikrothrombenbildung, kommt es zur regionalen Hypoxie (49), welche durch ansteigende Leukozyten-Rekrutierung weiter verstärkt wird (52). Der Gasaustausch wird schließlich durch das zunehmende alveoläre Ödem erschwert und die Hypoxie verstärkt sich.

Schon vor der Organentnahme können sich Beatmung, Aspiration, Infektion, Hirntod oder Hypotension negativ auf die spätere Transplantatfunktion auswirken. Handelt es sich bei dem Spender um einen Trauma-Patienten, kann eine Phase von hämorrhagischem Schock und Volumensubstitution unter anderem durch Störung der Mikrozirkulation zu einer weiteren Vorschädigung der Lunge führen und so eine Aggravierung der beschriebenen Pathomechanismen bewirken (31).

1.9 L-Arginin / NO-Pathway

Eine wichtige biologische Eigenschaft des freien Radikals NO ist dessen vasodilatierende Wirkung, die zu einer verbesserten Gewebsperfusion führt (53). Zusammen mit thrombozytenaggregationshemmenden Eigenschaften und der antiadhäsiven Wirkung auf aktivierte Leukozyten und Endothelzellen führt die Freisetzung von NO zu einer verbesserten Mikrozirkulation (54;55). Eine weitere protektive Wirkung von NO ist seine Eigenschaft als Radikalfänger. Nach Ischämie und Reperfusion können die entstehenden Sauerstoffradikale mit NO reagieren und so die toxische Wirkung der freien Radikale abschwächen (46). Dabei

kommt es zu einer Verminderung von NO mit Suppression der antiinflammatorischen und vasodilatativen Effekte (48).

Neben den beschriebenen protektiven Effekten von NO zeigen sich auch proinflammatorische Eigenschaften. So reagiert NO in entzündlichem Gewebe in Anwesenheit von Superoxidanion bei niedrigem pH zu Peroxynitrit (ONOO^\cdot), einem Radikal das durch die Oxidation von DNA Apoptose induzieren kann und in höheren Konzentrationen zytotoxische Effekte hat (56). Ob die beschriebenen pro- oder antiinflammatorischen Eigenschaften überwiegen hängt dabei stark von der Konzentration des freigesetzten NO sowie dem momentanen Bedarf in der Mikrozirkulation ab.

Die Freisetzung von NO wird über unterschiedliche Enzymsysteme reguliert. Die Freisetzung aus den Endothelzellen erfolgt durch die Calcium-abhängige NO-Synthase (eNOS) und durch die Calcium-unabhängige, induzierbare NO-Synthase (iNOS). L-Arginin ist das Substrat beider NOS und wird in NO und Citrullin umgewandelt. NO aktiviert die lösliche Guanylatcyclase, welche die Umwandlung von GTP in cGMP im Gefäßsystem katalysiert (Abb. 5).

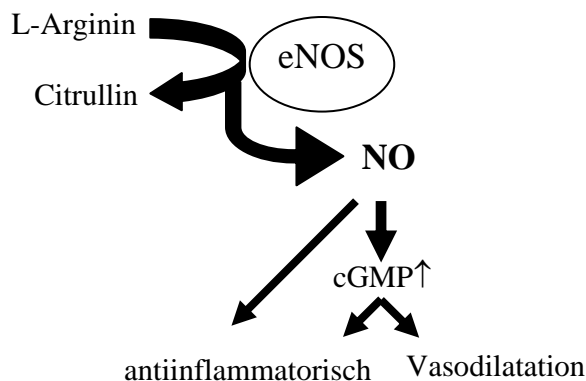


Abbildung 5: Schematische Darstellung des L-Arginin / NO-Pathway (48)

Die intrazelluläre Erhöhung von cGMP bewirkt einen Abfall der intrazellulären Calcium-Konzentration und damit eine Relaxation der Gefäßmuskelzellen. Während die eNOS permanent exprimiert wird und somit über eine kontinuierliche NO-Freisetzung aus den Endothelzellen den Vasotonus reguliert, wird die iNOS hauptsächlich bei prolongierter Inflamationsreaktion, z.B. im Rahmen einer Sepsis, induziert. Durch vermehrte Expression von iNOS kann im Vergleich zur eNOS etwa 20 bis 30 Mal mehr NO freigesetzt werden. Diese überschießende Produktion ist für die zytotoxische Wirkung von NO wesentlich verantwortlich. Da die iNOS nicht konstitutiv exprimiert ist setzt die überschießende NO-Produktion aus

diesem Enzymsystem erst frühestens nach 2-4 Stunden ein (57). Auslöser für die Freisetzung von NO durch eNOS sind unter anderem: Scherstress, ATP, Histamin, Thrombin, Endothelin und PAF. Inflammatorische Mediatoren wie TNF-alpha und IL-1, aber auch Substanzen wie LPS wirken stimulierend auf die iNOS-Induktion (58).

1.10 Gabe von L-Arginin während Lungentransplantation

Um den mit einer hohen Letalität verbundenen Ischämie-Reperfusionsschaden zu senken, wurden verschiedene therapeutische Ansätze entwickelt (28).

Ein möglicher Ansatzpunkt ist die Einflussnahme auf die NO-Konzentration in der frühen Reperusionsphase, in der es innerhalb von Minuten durch Reaktion von NO mit Sauerstoffradikalen zu einer Minimierung der endogenen NO-Konzentration kommt (59), was eine Erhöhung des pulmonalvaskulären Widerstandes und eine Verschlechterung der Mikrozirkulation mit konsekutiver Reduzierung des Sauerstoffangebots zur Folge hat (2). Mehrere Studien belegen, dass systemische Nitroglycerin-Gabe die Transplantatfunktion nach Lungentransplantation im Tiermodell verbessert (60).

Ein interessanter Therapieansatz ist die Gabe des Substrates L-Arginin. Der L-Arginin / NO-Pathway wird in der Frühphase nach Reperfusion über die endotheliale NO-Synthase (eNOS) und erst später, nach Induktion, auch über die iNOS katalysiert. Daher ist der Zeitpunkt der L-Arginin Substitution entscheidend, um eine antiinflammatorische, vasodilatative Wirkung zu erzielen. In der Frühphase nach Reperfusion kann durch Substitution des Substrates L-Arginin der relative Mangel an NO über die Reaktion mit der am pulmonalen Endothel exprimierten eNOS direkt in der Mikrozirkulation ausgeglichen werden (53).

Das pulmonale Endothel stellt die primäre Angriffsfläche der bei Ischämie und Reperfusion gebildeten Radikale dar (48). Die enorme Bedeutung der Radikale für das Ausmaß des Organschadens konnte von mehreren Arbeitsgruppen nachgewiesen werden (31;61). Die in der vorliegenden Studie ausgewählte intravenöse Applikation von L-Arginin ermöglichte es mehrere antiinflammatorische Effekte von NO therapeutisch zu nutzen (46;62;63). So sollte zum einen eine direkte Freisetzung von NO am mikrovaskulären Endothel erzielt, zum anderen die potentiell toxischen Wirkungen der systemischen NO-Gabe vermieden werden. Da das Maximum der Sauerstoffradikalentstehung wenige Minuten nach Reperfusion erreicht wird (61;64), wurde kurz vor Reperfusion mit der L-Arginin Gabe begonnen.

Der Perfusionszeitraum wurde in unseren Versuchen auf 2 Stunden begrenzt, sodass die beschriebenen Effekte einer verstärkten iNOS Expression weitgehend vermieden wurden (57). Da die ständig exprimierte eNOS NO nur in geringerer Menge freisetzt, ist die zytotoxische Wirkung gering (53).

2 Fragestellung

Organspender sind häufig Traumapatienten, die einen schweren Blutverlust erlitten haben. Der Einfluss von hämorrhagischem Schock und Resuscitation (HSR) beim Spender auf die Ausprägung des Reperfusionsschadens und die Organfunktion nach Lungentransplantation ist bislang ungeklärt. Ferner ist nicht bekannt, ob die i.v.-Applikation von L-Arginin (L-Arg) in der frühen Reperusionsphase die Transplantatfunktion derart vorgeschädigter Lungen verbessern kann. Im Rahmen einer tierexperimentellen Studie mit deutschen Hausschweinen sollten die folgenden Fragen untersucht werden.

- 2.1. Welchen Einfluss hat der hämorrhagisch- /traumatische Schock und die nachfolgende Volumentherapie beim Lungenspender auf den Ischämie-/ Reperfusionsschaden nach Lungentransplantation?
- 2.2. Kann durch Substitution von L-Arginin in der frühen Reperusionsphase nach Transplantation die Funktion dieser Lungen verbessert und die inflammatorische Reaktion reduziert werden?
- 2.3. Welche morphologischen und funktionellen Effekte zeigen sich an der kontralateralen Nativlunge nach Einzellungentransplantation und geben Hinweis auf die systemische Wirkung der L-Arginin Therapie?

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten deutsche Hausschweine beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von $27,1 \pm 0,7$ kg aus dem Lehr- und Versuchsgut der Tierärztlichen Fakultät München, Hubertusstr. 12, 85764 Oberschleißheim. Die Haltung und Pflege der Tiere erfolgte durch Fachpersonal im Stall des Institutes für Chirurgische Forschung, Klinikum Grosshadern, München. Alle Experimente wurden im Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München, nach Genehmigung durch die Regierung von Oberbayern, in Vollnarkose durchgeführt.

3.2 Anatomie der Lunge des Hausschweins

Die Anatomie des Herz-Kreislaufsystems des Hausschweins ist der humanen Situation ähnlich. Die linke Lunge des Hausschweins besitzt einen Lungenober- und Unterlappen, während sich die rechte Lunge in einen Lungenober-, Mittel- und Unterlappen gliedert. Der Bronchus caudalis sinister versorgt mit je vier ventralen und dorsalen Ästen den Lobus caudalis. Direkt nach der Bifurkation kommt aus dem rechten Hauptbronchus der Bronchus intermedius, der den Lobus intermedius versorgt. Daneben zweigt der Bronchus accessorius ab, der nach ventral gerichtet, den kleinen Lobus accessorius versorgt. Der Bronchus caudalis dexter entspricht in seinem Aufbau dem linken Bronchus caudalis (65). Der rechte Lungenoberlappen des Hausschweins wird vom Bronchus trachealis versorgt. Beim Menschen wird dies als anatomische Variante angetroffen.

Eine Transplantation der rechten Lunge analog zum Menschen, lässt sich beim Hausschwein wegen des Bronchus trachealis nicht durchführen. Daher wurde in der vorliegenden Studie eine linksseitige Einzellungentransplantation vorgenommen. Hier kann, analog zur klinischen Situation, der Hauptbronchus anastomosiert werden. Ferner ermöglicht die Einzellungentransplantation einen direkten Vergleich zwischen der nativen und der Transplantatlunge. Die anatomische Ausgangssituation beim Schwein ist in Abb. 6 illustriert (27).

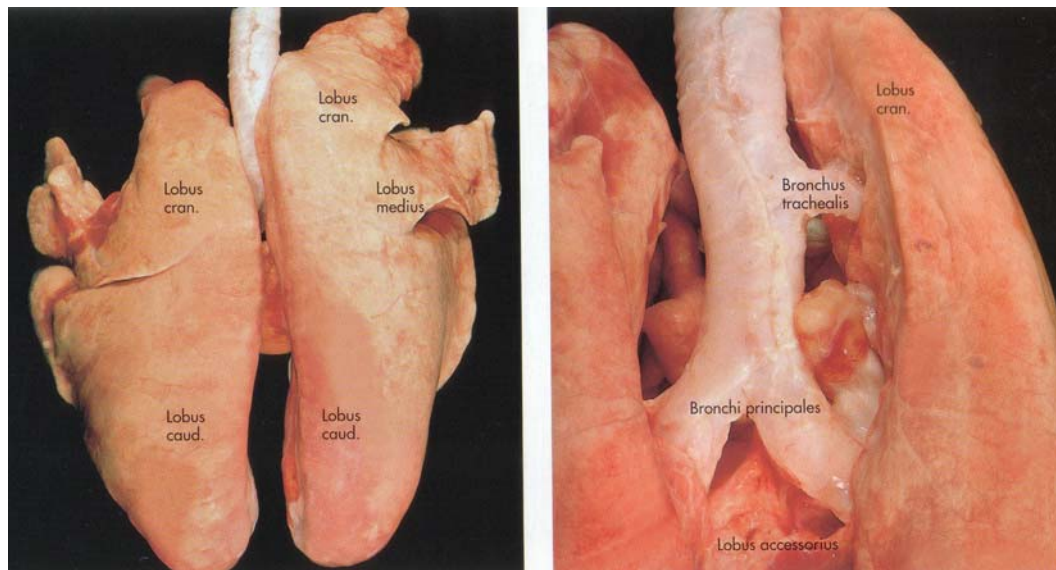


Abbildung 6: Lunge eines Schweines. Li. Dorsalansicht; Re. Dorsalansicht mit Aufnahme der Hauptbronchien; König HE, Liebich HG. Anatomie der Haussäugetiere. 2, 100-101. 1999. Schattauer .

3.3 Versuchsanordnung

Entsprechend der Fragestellung wurden drei Versuchsanordnungen zu je sechs Transplantationen geplant. Zwei konsekutive Randomisierungen wurden vorgenommen. Zunächst wurden die Tiere in die Hämorrhagie- und Nicht-Hämorrhagie- (Kontrolle) Gruppe zufällig zugeordnet. Anschließend wurde während der Resuscitation in der Hämorrhagie-Gruppe durch die zweite Randomisierung eine zufällige Zuordnung zur L-Arginin Behandlung (HSR/ L-Arg) und Kontrollgruppe (HSR) vorgenommen.

Kontrollgruppe (Spender n = 6; Empfänger n = 6):

Die Spendertiere der Kontrollgruppe (Kontrolle) wurden sternotomiert und die Pulmonalarterien kannuliert. Nach Flush-Perfusion wurden die Lungen entnommen und 18 h kalt gelagert. Danach erfolgte die Transplantation des linken Lungenflügels in die Empfängertiere. Die Analyse der Transplantatfunktion erfolgte in einer 6 stündigen Reperfusionphase.

HSR-Gruppe (Spender n = 6; Empfänger n = 6):

Bei den Spendertieren der Schockgruppe (HSR) wurde vor Explantation der hämorrhagische Schock durch Blutentzug von ca. 40% des zirkulierenden Blutvolumens über 30 Minuten induziert (Abb. 7). Nach 120 Minuten Schockphase wurde zur Resuscitation die 4-fache Menge des entzogenen Blutvolumens als Vollelektrolytlösung infundiert. Danach wurden die Lungen konserviert und 18h hypotherm gelagert. Am Implantationstag wurde den Versuchstieren 5 Minuten vor Reperfusion des Transplantates 10 ml 0,9% NaCl i.v. appliziert. Über einen Perfusor wurde dann 50 ml NaCl 0,9% innerhalb von 2 Stunden i.v. verabreicht (Abb. 8).

HSR/ L-Arg-Gruppe (Spender n = 6; Empfänger n = 6):

Mit den Spendertieren der L-Arginingruppe (HSR/ L-Arg) wurde analog zu den Tieren der Schockgruppe, bezüglich Hämorrhagie/Resuscitation, verfahren. Nach Implantation wurde 5 Minuten vor Freigabe des Blutstroms 50 mg/kg L-Arginin, gelöst in 10 ml 0,9% NaCl, i.v. als Bolus appliziert. Über einen Perfusor wurden anschließend 200 mg/kg L-Arginin, in 50 ml NaCl 0,9%, innerhalb von 2 Stunden i.v. verabreicht (Abb. 8).

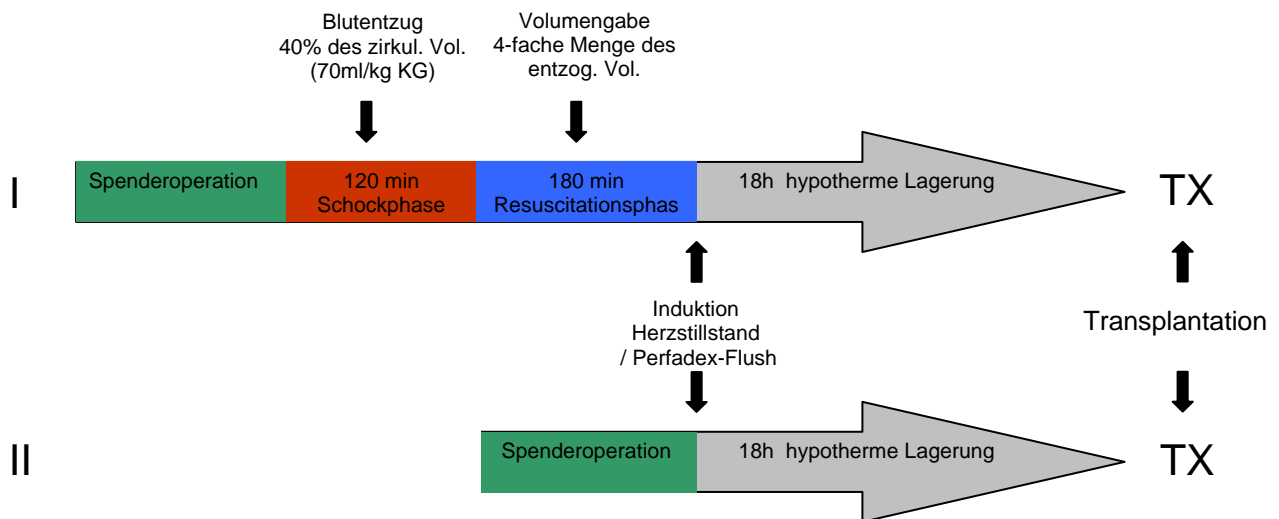


Abbildung 7: Übersicht der experimentellen Gruppen bei den Spendertieren. I : HSR- und L-Arg.-Gruppe; II: Kontrollgruppe. TX: Transplantation. Das experimentelle Protokoll für die HSR- und L-Arginingruppe ist bei der Explantation identisch.

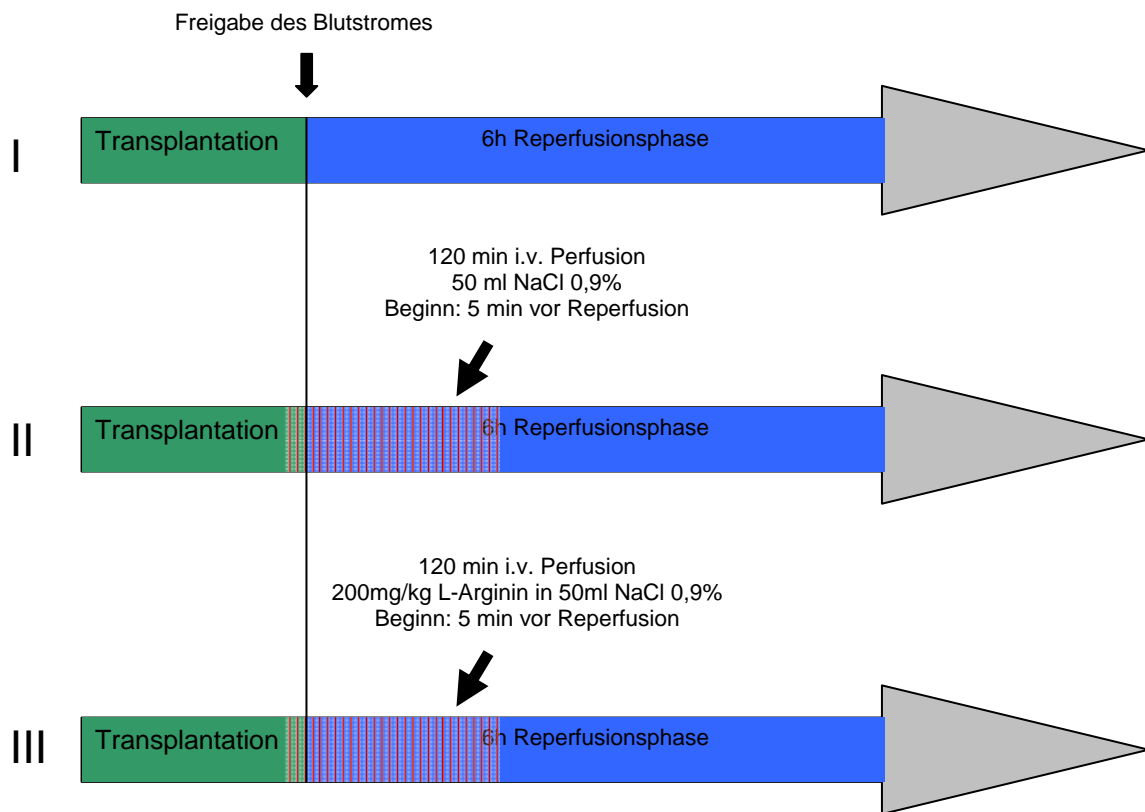


Abbildung 8: Übersicht der experimentellen Gruppen bei den Empfängern. I : Kontrollgruppe; II: Schockgruppe; III: L-Arginingruppe. Nach Beendigung der Reperusionsphase wurden die Tiere geopfert und anschließend histologische Proben sowie bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit entnommen.

Der Ablauf der Organentnahme beim Spender zum Empfänger ist in Abb. 9 dargestellt. Transplantiert wurde lediglich die linke Spenderlunge (TX). Die Rechte, ebenfalls flush-perfundierte und kalt konservierte Lunge (KL), wurde nicht transplantiert, sondern direkt nach hypothermer Lagerung auf morphologische Veränderungen untersucht. Dem Empfängertier wurde die linke Lunge entnommen (Pneumonektomielunge, PL) und die 18 h zuvor entnommene Spenderlunge implantiert. Die verbleibende rechte Lunge wurde als Nativlunge (NL) bezeichnet und gibt Aufschluss über Schädigungen, der nicht primär von Ischämie und Reperfusion betroffenen Organe („distant organ injury“) (66).

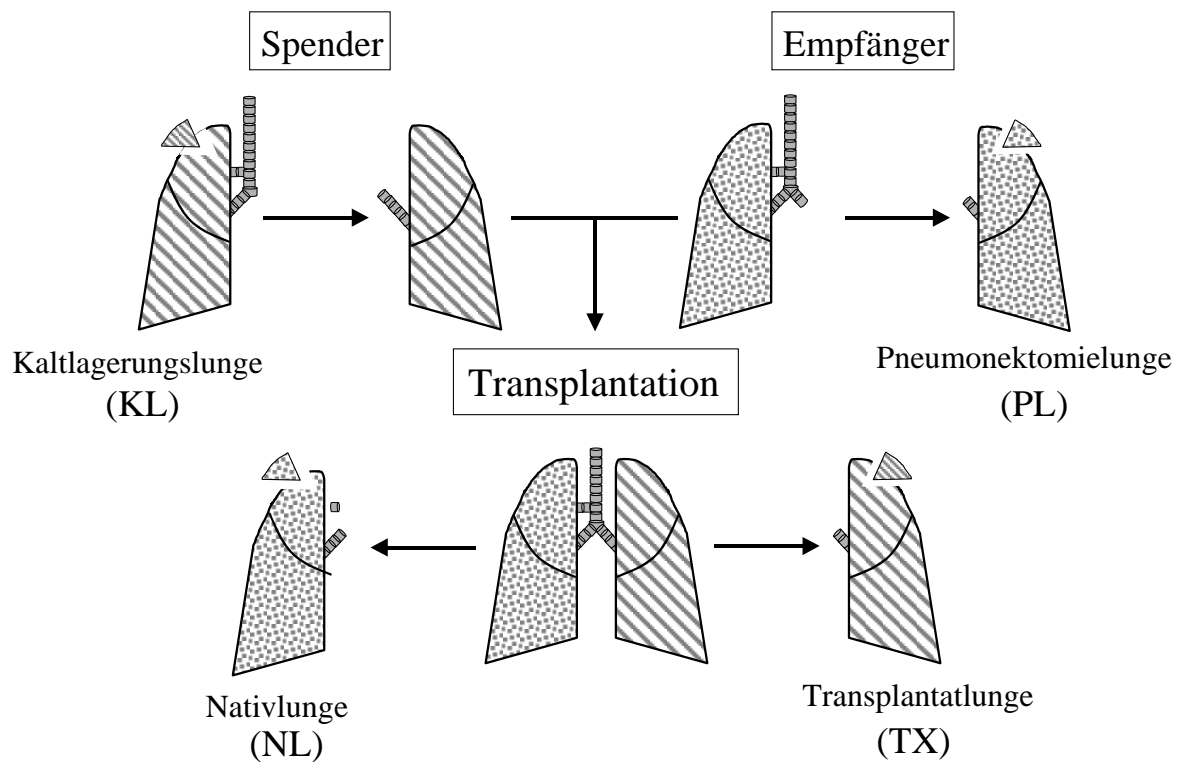


Abbildung 9: Die Spenderlungen werden mit Perfadex geflusht und 18 h kalt gelagert. Am Folgetag wird die linke Spenderlunge transplantiert. Die rechte Lunge der Spender wird direkt nach hypothermer Lagerung untersucht. Die Pneumonektomie sowie die kontralaterale Nativlunge der Empfängertiere werden ebenfalls untersucht.

3.4 Prämedikation und Narkoseführung

Zur Prämedikation erhielten die Spender- und Empfängertiere bei allen drei Versuchsanordnungen intramuskulär 0,05 mg/kg Atropinsulfat (Atropinsulfat-Lösung, Fa. Fresenius Kabi, Bad Homburg, FRG), 20 mg/kg Azaparon (Stresnil[®], Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss, FRG) und 50 mg/kg Ketaminhydrochlorid (Ketavet[®], Fa. Pharmacia GmbH, Erlangen, FRG) in den Nackenmuskel injiziert. Nach Analgosedierung wurde eine Ohrvene mit einer 18-G-Venenverweilkanüle punktiert.

Die Spendertiere wurden auf dem Operationstisch in Rückenlage gebracht. Nach Abdeckung und Desinfektion erfolgte die Implantation eines arteriellen und eines zentralvenösen Katheters sowie die Platzierung des Swan-Ganz-Katheters. Bei den

Empfängertieren wurde zusätzlich über eine mediane Unterbauchlaparotomie eine Blasenfistel angelegt, um eine permanente Flüssigkeitsbilanz zu ermöglichen.

Für die Beatmung wurden die Tiere tracheotomiert. Dazu wurde eine Hautinzision zwischen Jugulum und Krikoid im Bereich der ventralen Halsmuskulatur vorgenommen. Nach Durchtrennung des Unterhautfettgewebes und Blutstillung wurde die Trachea präpariert, angeschlungen, inzidiert und mit einem 7,0 Ch. Endotrachealtubus versorgt. Nach Lagekontrolle wurde der Tubus mit einem Tourniquet gesichert und die Haut mit einer Tuchklemme verschlossen.

Bei den Empfängertieren wurde eine linksbronchiale Intubation mit einem Doppellumentubus vorgenommen (Broncho-Cath R, 35 F links- bronchial, Fa. Mallinckrodt Co, London, UK). Die Fortführung der Narkose erfolgte mittels Bolusinjektion von 6 mg/kg KG Natriumthiopental iv. (Narcoren[®], Fa. Merial GmbH, Halbergmoos, FRG); unmittelbar vor Intubation wurde die Vollrelaxierung mit 0,4 mg/kg Pancuroniumbromid iv. (Pancuronium Curamed[®], Fa. CuraMED GmbH, Karlsruhe, FRG) erreicht. Zur Aufrechterhaltung der Narkose erhielten die Tiere kontinuierlich Fentanyl (0,05 mg/kg/h), Dormicum[®] (0,25 mg/kg/h) und Natriumthiopental (1,2 mg/kg/h) intravenös über einen Perfusor. Während des Operationsablaufs wurden sie mit 100 ml/h Vollelektrolytlösung als Dauerinfusion zur Volumensubstitution versorgt.

3.5 Beatmung

Die Beatmung wurde mit einer Beatmungsmaschine (Servo 900, Siemens, Solna, Schweden) bei einem FiO₂ von 1,0, einem Atemminutenvolumen von 240 ml/kg KG und einen positiv endexpiratorischen Druck von 5 cm H₂O, durchgeführt. Bei Doppellungenventilation erfolgte die Beatmung mit einer Frequenz von 12 pro Minute. Um das Atemminutenvolumen konstant zu halten, wurde während Einzellungenbeatmung auf eine Frequenz von 24 pro Minute erhöht.

3.6 Präparation am Spender

Über eine Inzision im Bereich der Regio lateralis colli wurde die Arteria carotis externa und die Vena jugularis dargestellt. Nach peripherer Ligatur und zentralem Anschlingen, erfolgte die Inzision und Platzierung eines zentralen Venenkatheters in die Vena jugularis externa zur

Flüssigkeits- und Medikamentenapplikation und die Einführung eines arteriellen Katheters in die Arteria carotis interna zur intraoperativen kontinuierlichen Blutdruckmessung und Blutgaskontrolle. Eine Pulmonalkatheterschleuse wurde in die Vena jugularis externa platziert und hierüber unter Druckkurvenkontrolle ein Swan-Ganz-Katheter in die Arteria pulmonalis eingeschwenkt. Nach Kontrolle auf Bluttrockenheit, wurde der Katheter durch eine Ligatur gesichert und die Haut mit Tuchklemmen verschlossen.

Nach Sternotomie wurde die Pleura parietales von der Sternumrückseite gelöst und ein Thoraxspreizer eingesetzt. Es folgte die Inzision der Pleura mediastinalis und des Perikards. Der Thymus wurde reseziert und die Vena cava superior und inferior angeschlungen. Danach wurde die Aorta ascendens unterfahren und das Infundibulum der Aorta vom Truncus pulmonalis abpräpariert.

Nach Anlage einer Tabaksbeutelnaht (Prolene[®] 5,0, Fa. Ethicon, Norderstedt) am Truncus pulmonalis, wurde eine Tourniquetligatur vorgelegt. Über eine Stichinzision in der Mitte der Tabaksbeutelnaht wurde ein 24F Perfusionskatheter vor der Bifurkation in der Arteria pulmonalis platziert. Die Sicherung des Katheters erfolgte mit dem Tourniquet, der mit einer Ligatur an den Perfusionskatheter fixiert wurde.

Es erfolgte die intravenöse Applikation von 10.000 IE Heparin (Heparin-Natrium, Fa. Braun Melsungen AG, Melsungen, FRG). Die Vena cava inferior und superior wurden ligiert und die Aorta abgeklemmt. Der Herzstillstand wurde durch Injektion von 20 ml 7,45% Kaliumchloridlösung (1M-Kaliumchlorid-Lösung, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, FRG) in die Aortenwurzel ausgelöst. Das linke Herzohr wurde eröffnet und die Flush-Perfusion mit 60 ml/kg 4°C kalter Low-Potassium-Dextran-Lösung (Perfadex[®]) begonnen. Der pH-Wert der LPD-Lösung wurde zuvor durch Trometamol (TRIS-36,34% Braun, Fa. Braun Melsungen AG, Melsungen, FRG) auf einen physiologischen Bereich eingestellt. Die Perfusion erfolgte unter Fortführung der Beatmung mit einem Perfusionsdruck von 50 cm Wassersäule. Gleichzeitig wurde die Lunge mit Eiswasser gekühlt. Nach Beendigung der Perfusion wurde die Trachea in Inspiration abgeklemmt und der Herz-Lungenblock vollständig entnommen, wobei die Lungen in insuffliertem Zustand verblieben.

Die Präparation des Herz-Lungenblocks erfolgte ex situ in vorgekühlter Ringerlösung. Das Herz wurde auf Höhe der Klappenebene reseziert, der linke Vorhof dorsal durchtrennt und der trabekuläre Anteil des linken Herzohres reseziert. Es folgte die Trennung der A. pulmonalis vom Vorhof und die Entfernung von lymphatischem Gewebe an der Trachea und den Hauptbronchien. Anschließend wurde das Präparat in frische, vorgekühlte Ringer-Lösung gebracht, mit feuchten Kompressen bedeckt und 18 Stunden lang hypotherm bei plus 4°C in

geblähtem Zustand bis zur Implantation gelagert, wie dies Abb. 10 zeigt. Die Trennung der beiden Lungen erfolgte erst kurz vor der Implantation.



Abbildung 10: Herz-Lungenblock nach Explantation.

3.7 Hämorrhagischer Schock und Resuscitation (HSR) beim Spender

In den beiden Versuchsgruppen wurde nach Abschluss der chirurgischen Präparation und vor Kannulierung der Arteria pulmonalis, durch Blutentzug aus dem arteriellen Katheter über 30 min ein hämorrhagischer Schock induziert und für insgesamt 120 min beibehalten. Dabei wurden ca. 40 % des zirkulierenden Blutvolumens entnommen. Das Blutvolumen wurde mit 70 ml pro Kilogramm Körpergewicht berechnet (67;68).

Zur Resuscitation wurde über 30 min die 4-fache Menge des entzogenen Blutvolumens als Vollelektrolytlösung infundiert. Nach insgesamt 180 min Resuscitation wurde die A. pulmonalis der Tiere nun kannuliert und die Lungen mit Perfadex Konservierungslösung flush-perfundiert und mit kalter Ringerlösung topisch gekühlt (Abb. 7).

3.8 Operatives Vorgehen bei der Transplantation

3.8.1 Pneumonektomie beim Empfänger

Zur Thorakotomie wurde das Tier in Rechtsseitenlage gebracht und der Thorax durch Unterlegen eines Hypomochlions exponiert. Es erfolgte die anterolaterale Thorakotomie mit Eröffnung des Pleuraraumes (Abb.11). Nach Durchtrennung zweier Rippen, wurde ein Thoraxspreizer eingesetzt.



Abbildung 11: Empfängertier in Rechtsseitenlage nach Eröffnung des Pleura-Raumes.

Für die folgende Präparation wurde die linke Lunge von der Beatmung vorübergehend abgekoppelt. Der Unterlappen wurde zunächst durch Dissektion des Lig. pulmonale mobilisiert. Nach Setzen von zwei Overholtclennen erfolgte die Durchtrennung und Ligatur der Vena hemiazygos. Der Ductus botalli wurde freipräpariert und nach Durchstechungsligaturen durchtrennt. Anschließend wurde das lymphatische Gewebe zwischen Aorta, linkem Vorhof und Arteria pulmonalis reseziert, was den freien Zugang zur Bifurkation der Arteria pulmonalis ermöglicht. Nach Darstellung des Hauptstammes der Arteria pulmonalis dexter (kontralaterale Seite) wurde dieser mit einem Overholt umfahren und ein Tourniquet platziert.

Nach Präparation der Lungenvenen und Gabe von 10.000 IE Heparin i.v. wurden zunächst die Arteria pulmonalis sinistra und die Lungenvenen am linken Vorhof abgeklemmt. Die Durchtrennung der Arteria pulmonalis erfolgte möglichst weit peripher, die der Vv. pulmonales nahe am Lungenhilus. Abschließend wurde der linke Hauptbronchus in Höhe des Abgangs des linken Oberlappenbronchus durchtrennt und die Lunge entnommen.

3.8.2 Transplantation

Bei der Implantation der Spenderlunge wurde mit der bronchialen Anastomose begonnen. Nach Anpassen der Länge beider Bronchusstümpfe, wurde durch fortlaufende Naht unter Verwendung von Prolene 5-0 eine End-zu-End Anastomose angelegt. Danach wurde der bronchiale Schenkel des Endotrachealtubus über die Anastomose vorgeschoben. Die Anastomose der Arteria pulmonalis erfolgte ebenfalls End-zu-End mit einer fortlaufenden, evertierenden Naht (Prolene[®], Polypropylen, monofil, Fa. Ethicon, Norderstedt, FRG, Stärke 5-0). Bevor die beiden Fadenenden verknotet wurden, wurde unmittelbar in Hilusnähe eine zweite Gefäßklemme auf das Spendersegment der Arteria pulmonalis gesetzt. Nach Lösen der proximalen Klemme dehnte der Anschlagspuls die Anastomose auf den Bedarfsdurchmesser auf. Die Fadenenden wurden nun verknüpft, so dass eine stenosefreie Anastomose resultierte. Der linke Vorhof wurde an den Stümpfen der Vv. pulmonales angehoben und eine Satinsky-Klemme so angelegt, dass eine ausreichende Vorhofmanschette für die Anastomose resultierte. Diese wurde inzidiert und zurechtgeschnitten. Anschließend wurde die Hinterwandnaht von Spender und Empfängervorhöfen in fortlaufender, evertierender Naht anastomosiert. Danach erfolgte die Naht der Vorderwand mit Prolene[®] 5-0. Die letzten Stiche wurden locker gelassen und das Lumen mit einer Pinzette offen gehalten.

Nach Absaugen des Bronchialtubus wurde das Transplantat sukzessive gebläht und dann an die Beatmung angeschlossen. Der Blutstrom wurde freigegeben und die Strombahn über die noch offene Vorhofnaht entlüftet. Abschließend konnte die Vorhofnaht, nach Entfernung der Satinsky-Klemme, geknüpft werden. Nun wurde das Hypomochlion entfernt und der Thorax temporär mit Tuchklemmen verschlossen.

3.9 Gemessene Parameter

Folgende Untersuchungen wurden durchgeführt:

- Blutbildanalyse
- Hämodynamische Parameter
- Pulmonaler Gasaustausch
- Lungen-Compliance
- Histologische Untersuchung und Analysen der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit

3.9.1 Zeitlicher Ablauf der Messungen

Bei den Spendertieren der Kontrollgruppe wurde nach Katheterimplantation und Stabilisierung eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt. Bei den anderen Gruppen wurde den Tieren vor Sternotomie, 40 min und 120 min nach hämorrhagischen Schock sowie 30 min und 180 min nach Resuscitation arteriell Blut entnommen (Abb. 12).

Vor Thorakotomie und nach Pneumonektomie erfolgte bei den Empfängertieren neben der arteriellen Blutgasanalyse auch eine Blutgasanalyse des pulmonal-venösen Blutes, das über den Swan-Ganz-Katheter abgenommen wurde. In der Beobachtungsphase der Empfängertiere von insgesamt 6 Stunden nach Reperfusion der Transplantatlunge, wurde stündlich eine arterielle und venöse Blutgasanalyse während der Doppellungenventilation und -perfusion durchgeführt. Um den pulmonalen Gasaustausch der Transplantatlunge beurteilen zu können, wurden 30 min, 2, 4 und 6 Stunden nach Reperfusion der Transplantatlunge zusätzlich arterielle Blutproben, in isolierter Ventilation und Perfusion der Transplantatlunge, analysiert. Hierfür wurde 5 Minuten vor Abnahme der Blutproben der rechte Schenkel des Doppellumentubus mit einer Schlauchklemme abgeklemmt und die rechte Arteria pulmonalis durch den vorgelegten Tourniquet okkludiert. Nach 3, 5 und 6 Stunden Reperfusion wurde eine entsprechende Untersuchung des pulmonalen Gasaustausches (arterielle und pulmonal-venöse Blutgasanalyse) der kontralateralen Nativlunge in isolierter Ventilation und Perfusion (Abklemmen des linken Schenkels des Doppellumentubus und Okklusion der linken Arteria pulmonalis durch eine Bulldog-Klemme) vorgenommen. Zu den beschriebenen Messzeitpunkten erfolgten ebenfalls Messungen der Hämodynamik sowie des Gasaustausches (Abb. 13). Der experimentelle Situs beim Empfängertier ist in Abb. 14 dargestellt.

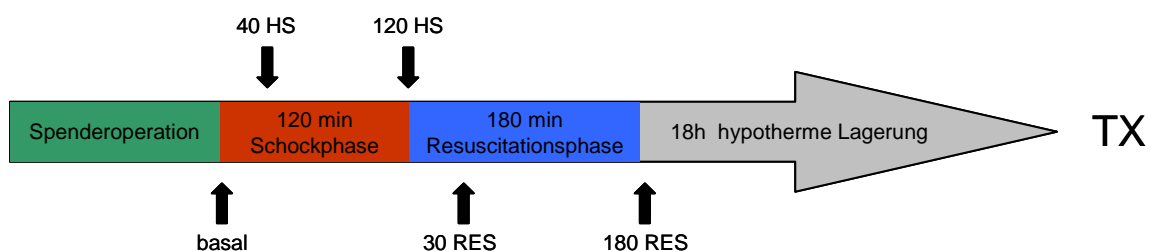


Abbildung 12: Messung der Hämodynamik und des Gasaustauschs der Spendertiere der HSR und HSR/ L-Arginingruppe. Messungen: basal, 40 min. hämorrhagischer Schock (HS), 120 min. hämorrhagischer Schock, 30 min. Resuscitation (RES), 180 min. Resuscitation.

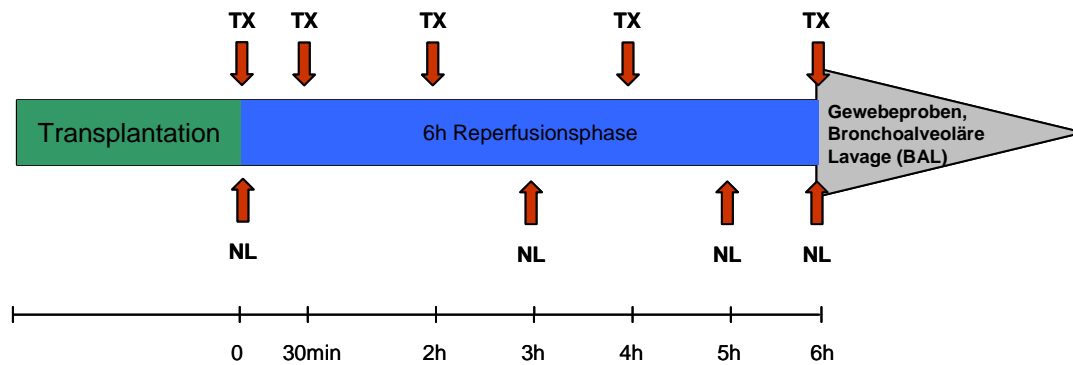


Abbildung 13: Messung der Hämodynamik und des Gasaustauschs in isolierter Ventilation und Perfusion der Empfängertiere: Transplantatlunge (TX): basal, 30 min, 2h, 4h, 6h; Nativlunge (NL): basal, 3h, 5h, 6h.

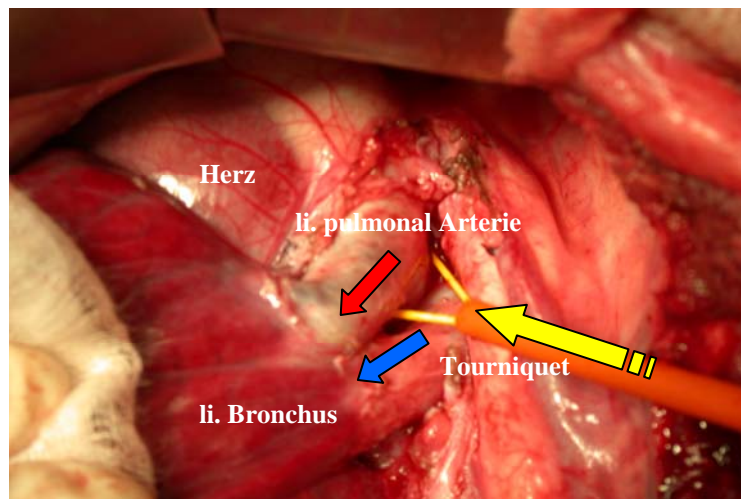


Abbildung 14: Messung bei isolierter Ventilation und Perfusion durch temporäre Okklusion des Tourniquet.

3.9.2 Blutbildanalyse

Das Blutbild wurde mittels des Coulter Counter (Coulter Counter T 540, Fa. Coulter, Krefeld) erstellt. Es wurden Leukozyten, Thrombozyten, Hämoglobin und Hämatokrit bestimmt. Die Messungen erfolgten zu den vorbestimmten Zeitpunkten (Abb. 12/13).

3.9.3 Hämodynamische Parameter

Über einen arteriellen Katheter (Fa. Arrow, Reading, PA, USA), der mit einem Statham Pressure-Transducer-System verbunden war, konnte der mittlere arterielle Druck (MAP) zusammen mit der Herzfrequenz mit Hilfe einer Hellige Recomed[®] Einheit (Fa. Hellige Freiburg i. Br., FRG) registriert werden. Über einen Dreiwege-Hahn wurde der ZVK zur Dokumentation des zentral-venösen Drucks (ZVD) mit dem Druckaufnehmer verbunden. Ein Swan-Ganz-Katheter (Criticath[®], Thermodilution Catheter 7 F, Fa. Ohmeda, Erlangen, FRG) wurde nach Einschwemmen in die A. pulmonalis mit einem Statham Pressure-Transducer-System verbunden. Anhand der abgeleiteten Druckkurve wurde die korrekte Lage des Katheters bestimmt. Die Registrierung des mittleren pulmonal-arteriellen Drucks (MPAP) sowie des pulmonal-kapillären Verschlussdruckes (PCWP) erfolgte ebenfalls mit einer Hellige Recomed[®] Einheit. Das Herzminutenvolumen (Cardiac Output, CO) wurde mit Hilfe der Thermodilutionsmethode bestimmt. Die Registrierung der Temperaturänderung erfolgte über den Swan-Ganz-Katheter, der mit einem REF-1 CO-Computer (Fa. Baxter, Santa Ana, USA) verbunden war.

Zur Berechnung der Gefäßwiderstände wurden folgende Formeln verwendet:

Der pulmonale Gefäßwiderstand PVR (dynes x sec x cm⁵):

$$\text{PVR (dynes x sec x cm}^5\text{)} = ((\text{MPAP [mmHg]} - \text{PCWP [mmHg]}) / \text{CO [l/min]}) \times 79$$

Der systemische Gefäßwiderstand SVR (dynes x sec x cm⁵):

$$\text{SVR (dynes x sec x cm}^5\text{)} = ((\text{MAP [mmHg]} - \text{ZVD [mmHg]}) / \text{CO [l/min]}) \times 79$$

Da eine Messung des Wedge-Drucks (PCWP) im Zustand der Einzellungenperfusion nicht möglich ist, wurde bei den Berechnungen der PCWP-Wert der unmittelbar zuvor durchgeführten Doppellungenmessungen zugrunde gelegt.

3.9.4 Pulmonaler Gasaustausch

Die Blutgasanalyse heparinierter Blutproben wurde mit Hilfe des Chiron der Fa. Bayer durchgeführt. Der Blood-Gas-Analyzer gibt für jede eingegebene Probe den Sauerstoffpartialdruck (pO₂), Kohlendioxidpartialdruck (pCO₂), Sättigung des Hämoglobins

(SO₂), Base-Excess (BE), pH, Standardbicarbonat (HCO₃⁻) sowie die Konzentration von Natrium (Na⁺) und Kalium (K⁺) an. Der Sauerstoffgehalt (C_{a/v}O₂) der Blutproben wurden nach unten stehenden Formeln errechnet. Blutproben für die arterielle (a) und gemischtvenöse (v) Blutgasanalyse wurden über den arteriellen Katheter bzw. den in der A. pulmonalis liegenden Swan-Ganz-Katheter entnommen.

Der intrapulmonale Shunt (Q_s/Q_t) wurde nach einer Formel für paO₂-Werte >150 mmHg [126] errechnet:

$$C_{a/v}O_2 = 1,34 \times Hb \times S_{a/v}O_2 + p_{a/v}O_2 \times 0,0031 \text{ [Vol\%]}$$

$$Q_s/Q_t = [(AaDO_2 \times 0,0031) / (AvDO_2 + (AaDO_2 \times 0,0031))] \times 100 \text{ [\%]}$$

$$AvDO_2 \text{ (Arteriovenöse Sauerstoffgehaltsdifferenz)} = CaO_2 - CvO_2 \text{ [Vol \%]}$$

$$AaDO_2 \text{ (Alveoloarterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz)} = P(B) - P(H_2O) - paCO_2/0,8 - paO_2 \text{ [mmHg]}$$

Zu jedem Messzeitpunkt wurden neben der Dokumentation der hämodynamischen Parameter auch Blutproben für die Blutgasanalyse abgenommen.

3.9.5 Lungencompliance

Der Respirator (Servo 900, Siemens, Solna, Schweden) ermöglichte das Ablesen des AMV sowie des Atemwegsspitzen drucks (P_{vent}) bei vorgewählter Atemfrequenz. Aus Hubvolumen und Atemwegsspitzen druck wurde die dynamische Compliance der Lungen (C_{dyn}), als Maß für die Dehnbarkeit, wie folgt ermittelt:

$$V_t = AMV / AF$$

$$C_{dyn} \text{ [ml/cmH}_2\text{O]} = V_T \text{ [ml]} / P_{vent} \text{ [cmH}_2\text{O]}$$

3.9.6 Untersuchung von Gewebeproben und bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit (BALF)

3.9.6.1 Feucht- /Trockengewichtsquotient

Der Quotient aus Feucht- und Trockengewicht repräsentiert den Gehalt an Wasser in den entnommenen Gewebeproben und wird in in-vivo-Experimenten zur Beurteilung der Ödembildung herangezogen. Jeweils eine Gewebeprobe vom apikalen Oberlappen und ventralen Unterlappen wurde zur Bestimmung des Feucht-/ Trockengewichtsquotienten entnommen und gewogen: Von der linken Lunge des Empfängertieres (Pneumonektomielunge, PL) wurde sofort nach Thorakotomie, von der rechten Spenderlunge (Kaltlagerungslunge, KL) nach der hypothermen Lagerung die jeweils etwa gleich großen Proben entnommen. Von der rechten Nativlunge der Empfängertiere sowie der Transplantatlunge erfolgte die Probeentnahme am Versuchsende. Nach Trocknen für 72 Stunden bei 100°C wurden die Gewebeproben wieder gewogen und der mittlere Feucht-/Trockengewichtsquotient bestimmt.

3.9.6.2 Transplantat-Gewichtszunahme

Die Transplantatlunge wurde vor Implantation und nach Beendigung der Reperfusionphase gewogen. So konnte die Gesamtgewichtszunahme bestimmt werden.

3.9.6.3 Histologie

Gleichzeitig mit der Gewebeentnahme für die Bestimmung des Feucht-/Trockengewichtsquotienten wurden vom apikalen Oberlappen und ventralen Unterlappen der Lungen jeweils eine Gewebeprobe für die histologische Untersuchung entnommen und in einer gepufferten 4%-igen Formalinlösung fixiert. Nach Einbetten in Paraffin wurden 4 µm dünne Schnitte der Proben angefertigt. Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin (HE) und mit der spezifischen Granulozyten-Esterase Naphtol AS-D Chloracetat-Esterase (Fa. Sigma Diagnostics[®], Deisenhofen, FRG) gefärbt.

3.9.6.4 Quantifizierung des Gewebeschadens

Zur morphologischen Analyse der Gewebeschädigung wurde eine speziell für Lungentransplantate standardisierte semiquantitative Auswertung vorgenommen (69). Bei der geblindeten histologischen Bewertung durch einen unabhängigen Pathologen (Fr. PD Dr. med. I. Bittmann, Institut für Pathologie, Diakoniekrankenhaus Rotenburg (Wümme)) wurden folgende Parameter analysiert und mit Punkten bewertet (Grad 0 = normal, Grad 1 = geringe, Grad 2 = mittelgradige und Grad 3 = hochgradige Veränderungen): Endothelschaden, Alveolardeckzell-Desquamation, intraalveoläre Fibrinexsudation, intraalveoläres Ödem, interstitielles Ödem, Leukozytenakkumulation am Endothel und Zellnekrosen.

3.9.6.5 Bestimmung der Myeloperoxidasekonzentration (MPO)

Die Messung der Aktivität der leukozytären Myeloperoxidase (MPO) stellt eine etablierte Methode zur Quantifizierung der Leukozytenakkumulation im Lungengewebe dar. Die Bestimmung erfolgte anhand eines standardisierten Protokolls (70):

Jeweils 100 mg Lungengewebe wurden homogenisiert und 15 min bei 4°C und 20.000 RPM in einer Ultrazentrifuge (RC5C, Du Pont de Nemours GmbH, Bad Homburg, Germany) zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet mit 1000 µl HTAB Puffer (Hexadecyltrimethylammoniumbromid, Sigma, H-5882) resuspendiert.

Die Pellets wurden für 2 Stunden in einem Wasserbad bei 60 °C inkubiert, anschließend 10 Sekunden soniziert, bei -80°C tiefgefroren und in einem Wasserbad wieder aufgetaut. Diese Arbeitsschritte wurden 3 mal wiederholt. Zum Schluss wurde die Suspension für 15 min bei 20.000 RPM zentrifugiert. Der Überstand wurde für die MPO-Bestimmung genutzt.

Die Enzym-Reaktion wurde durch Mischung von 300 µl Überstand, 150 µl 2,4 mM Hydrogenperoxid und 50 µl 1,6 mM 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB, Sigma T-2885) ausgelöst. Zunächst wurde das Gerät (DU7500, Beckmann, Fullerton, CA, USA) kalibriert. Anschließend wurde nach raschem Verrühren der Substanzen die photometrische Bestimmung bei 691 nm über ca. 180 Sekunden durchgeführt, wobei der Reaktionsverlauf mittels eines Schreibers bei 120mm/min aufgezeichnet wurde. Eine MPO-Einheit ist als Reduzierung der Enzymmenge (1 µmol peroxid/min. bei 25 °C) definiert.

3.9.6.6 Bronchoalveoläre Lavage

Sowohl bei der Pneumonektomielunge (PL), als auch der Kaltlagerungslunge (KL), der Transplantatlunge (TX) und der rechten Nativlunge des Empfängers (NL) wurde bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit entnommen.

Dazu wurden jeweils 100 ml sterile physiologische Kochsalzlösung mit einer Magenspritze in den Bronchus instilliert und anschließend vorsichtig aspiriert. Nach Bestimmung des zurückgewonnenen Volumens (71), erfolgte die Filtration des Aspirates durch eine doppelte Lage steriler Kompressen, um grobe Verunreinigungen zu entfernen. Anschließend wurde die bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit (BALF) weiterverarbeitet.

Alle weiteren Untersuchungen der Lavageflüssigkeit erfolgten zur Vermeidung von Kontaminationen unter einer Laminar- Air- Flowbank.

Nach Bestimmung der Gesamtzellzahl in der Lavage wurde der zelluläre Anteil vom Überstand durch Zentrifugation (10 min, 1500 U/min) getrennt. Jeweils vier Aliquots des zellfreien Überstandes wurden bis zur weiteren Analyse bei -80 C° eingefroren. Das entstandene Zellpellet wurde in 40 ml Phosphat-gepufferter 0,9%-iger Kochsalzlösung (PBS-Lösung) resuspendiert und erneut zentrifugiert. Anschließend wurde das Zellpellet in 10 ml RPMI 1640-Nährlösung unter Zusatz von 10% fetalem Kälberserum (FCS) resuspendiert und es erfolgte die Einstellung der Zellkonzentration auf 2×10^6 Zellen pro ml.

3.9.6.6.1 Zelldifferenzierung der BALF

Jeweils 200 µl der gewonnenen Zellsuspension wurde mit einer Cytospin[®]-Zentrifuge (Fa. Standon, Frankfurt, FRG) 5 min bei 500 rpm auf einen Objektträger zentrifugiert. Anschließend wurden die Zellen nach Pappenheim gefärbt. Nach dem Trocknen erfolgte die morphologische Differenzierung von 100 Zellen unter dem Öl-Immersionmikroskop.

3.9.6.6.2 Bestimmung des oxidativen Burst von Leukozyten und Alveolarmakrophagen

Die spontane und stimulierte Produktion von „reactive oxygen species“ (freie Sauerstoffradikale, ROS) der polymorphkernigen Leukozyten (72) wurde in der BALF gemessen (oxidativer Burst). Eine BAL-Probe wurde auf 1×10^6 Zellen/ml eingestellt. 4,85 mg

DCF (Serva 19353) wurden in 1 ml Dimethylformid (DMF, Sigma D-4254) gelöst. Diese Stammlösung wurde nun weiter mit PBS (1:10) verdünnt. Danach wurde zur Stimulation der polymorphkernigen Leukozyten Phorbol 12-Myristat 13-Acetat (PMA, Sigma, P-8139) verwendet. Es wurde 1 mg PMA in 1 ml Dimethylsulfoxid (DMSO, Merck 2931) gelöst. Die Stammlösung wurde im Verhältnis 1:100 mit PBS verdünnt. Zu 250 µl der Zellsuspension wurden 50 µl des DCF hinzu gegeben. Nach Mischung der beiden Lösungen wurde die Zellsuspension 15 min bei 37°C im Schüttelbad inkubiert, dann wurden 50 µl der verdünnten PMA-Lösung hinzu gegeben, woraufhin die Zellsuspension erneut für 15 min inkubiert wurde. Nach dieser zweiten Inkubation wurden die Proben auf Eis gestellt und die Fluoreszenz im FACSsort flow Cytometers (FACS, Becton, Dickinson) bei einer Wellenlänge von 530 nm gemessen. Als Kontrolle dienten Proben mit Zusatz von DCF, ohne PMA-Stimulation sowie Proben nur mit Zellsuspension ohne Zugabe von DCF.

3.9.6.6.3 Thiobarbitursäure reaktive Substanzen Assay (TBARS)

Nach einem Protokoll von Hesse et al. (73) wurde die Konzentration der Thiobarbitursäure reaktiven Substanzen (TBARS) in der BALF bestimmt. TBARS sind Peroxidationsprodukte von Lipiden, welche mit Malondialdehyd zu einem photometrisch messbaren Polymethinfarbstoff reagieren und so zur Quantifizierung der Lipidperoxidation und damit der Zellschädigung verwendet werden können.

Die Denaturierung der Proteine in der BAL Probe wurde mit 50 µl einer 50%-igen Trichloressigsäure (TCA, Sigma Chemie Deisenhofen) erreicht. Der entstandene Überstand wurde mit 75 µl 1,3% Thiobarbitursäure (TBA, Sigma Chemie, Deisenhofen) sowie 0,3 % NaOH vermischt. Nach Inkubation für 1 Stunde bei 90°C und einer anschließenden Abkühlung im Eiswasser wurden die Proben 6 Minuten bei 3500 RPM zentrifugiert. Jeweils 200 µl der Proben wurden auf eine 96-well Platte gegeben und die Absorption bei 530 nm mit einem Mikroplattenlesegerät (microplate reader, Dynex Technologies, Denkendorf) abgelesen. Die TBARS wurden mit Hilfe einer Malondialdehyd-Standardkurve quantifiziert (Sigma, Deisenhofen).

3.9.6.6.4 Bestimmung der Laktat- Konzentration und des Kaliumgehaltes

Die Bestimmungen des Kaliumgehaltes, sowie der Laktatkonzentration im zellfreien Überstand erfolgte mit Hilfe des Blutgasanalyse-Gerätes (Superanalyzer, Fa. Anylex, Japan).

3.9.6.6.5 Bestimmung der Eiweißkonzentration

Die Bestimmung der Eiweißkonzentration wurde in einem Analysator der klinischen Chemie des Klinikums Großhadern nach der Biuret-Methode durchgeführt (Olympus AU 2700, Fa. Olympus, Japan).

3.10 Statistik

Alle erhobenen Daten sind als Mittelwert (MW) und Standardfehler des Mittelwertes (SEM) angegeben. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit SigmaStat[®] für Windows.

Unterschiede zwischen den einzelnen Zeitpunkten wurden mittels des One-Way-ANOVA-Repeated-Measures Test gewertet. Gruppenunterschiede wurden mit dem One-Way-ANOVA on ranks Test gefolgt vom Dunn's test vorgenommen. Zur Ermittlung signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppen wurde der Student-Newman-Keuls Test durchgeführt. Unterschiede wurden bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Entzogenes Blutvolumen zur Induktion des hämorrhagischen Schocks beim Spender

Das entzogene Blutvolumen zur Induktion des hämorrhagischen Schocks in der Schock (HSR)- und L-Arginingruppe (HSR/L-Arg) unterschied sich nicht. Auch das Infusionsvolumen in der Resuscitationsphase zeigte keine signifikanten Unterschiede (Tab. 5). Die Lungen der Spendertiere der Kontrollgruppe wurden direkt nach Präparation explantiert. Das Körpergewicht der Tiere aller 3 Spendergruppen wies keine signifikanten Unterschiede auf.

Tabelle 5: Blutentzug, Resuscitation und Körpergewicht der Versuchsgruppen.

	Kontrolle	HSR	HSR/L-Arg
Blutentzug (ml)	-	745 ± 47	823 ± 43
Volumen Resuscitation (ml)	-	3032 ± 190	3332 ± 186
Körpergewicht (kg)	27,4 ± 1,3	26,7 ± 1,8	28,0 ± 2,0

4.1.1 Makrohämodynamik beim Spender

Die Auswirkung des Volumenmangelschocks auf den Blutdruck und die Herzfrequenz ist in Abb. 15 und 16 dargestellt. Es zeigte sich ein signifikanter Abfall des Blutdrucks ($p < 0,05$) sowie ein kompensatorischer Anstieg der Herzfrequenz in der Phase des hämorrhagischen Schocks, ohne Gruppenunterschiede.

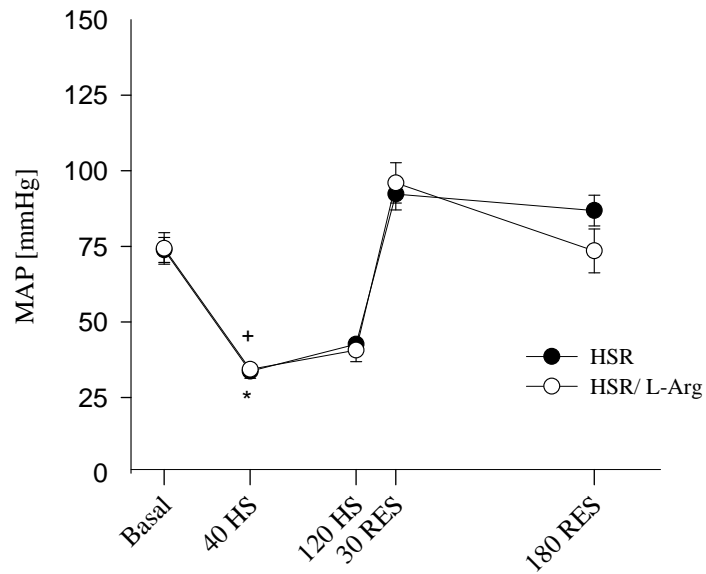


Abbildung 15: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) des Spenders. ⁺p < 0,05 vs. basal, 30 RES, 180 RES; *p < 0,05 vs. basal, 30 RES, 180 RES.

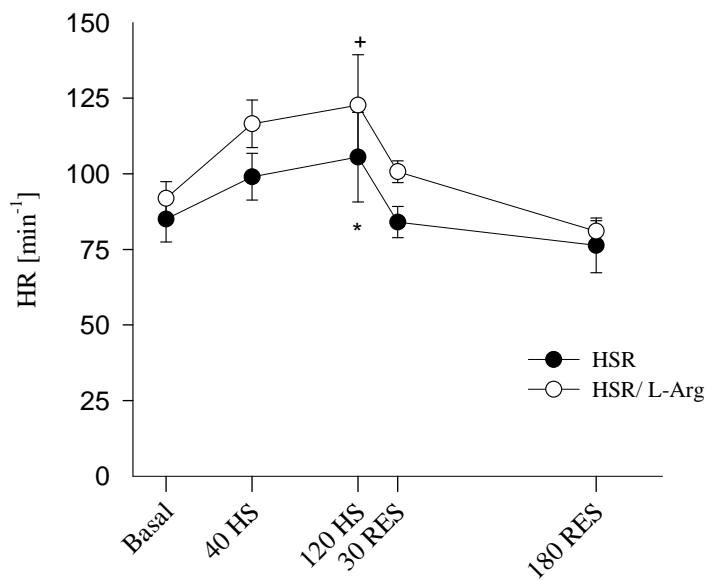


Abbildung 16: Herzfrequenz (HR) des Spenders. *p < 0,05 vs. 180 RES; ⁺p < 0,05 vs. 180 RES.

Das Herzminutenvolumen fiel im hämorrhagischen Schock signifikant ab ($p < 0,05$) und stieg nach Resuscitation wieder signifikant an ($p < 0,05$) (Abb. 17). Der in Abbildung 18

dargestellte systemvaskuläre Widerstand blieb zunächst unverändert und stieg nach 180 RES signifikant ($p < 0,05$) an. Es bestanden keine Gruppenunterschiede.

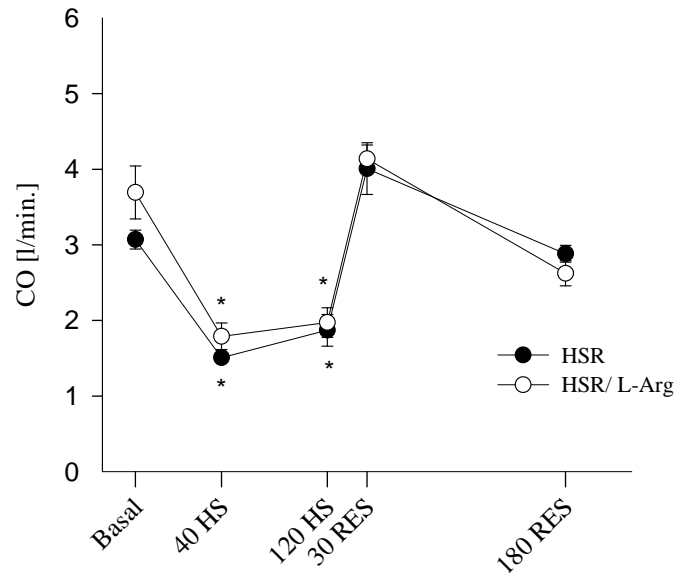


Abbildung 17: Herzminutenvolumen (CO) des Spenders.* $p < 0,05$ vs. basal, 30 RES; * $p < 0,05$ vs. basal, 30 RES.

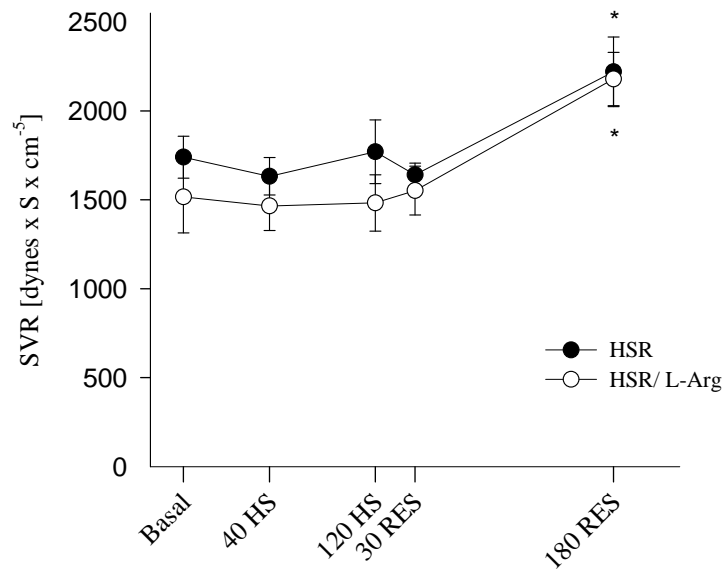


Abbildung 18: Systemvaskulärer Widerstand (SVR) der Spendertiere.* $p < 0,05$ vs. basal, 40 HS, 120 HS, 30 RES.

4.1.2 Gasaustausch und Lungenfunktion

Der in Abbildung 19 dargestellte Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut nahm während des Untersuchungszeitraumes kontinuierlich ab. Nach 180 Minuten Resuscitation bestand ein signifikant Unterschied versus basal ($p < 0,05$). Der Kohlendioxidpartialdruck blieb unverändert. Es bestanden keine Gruppenunterschiede (Abb. 20).

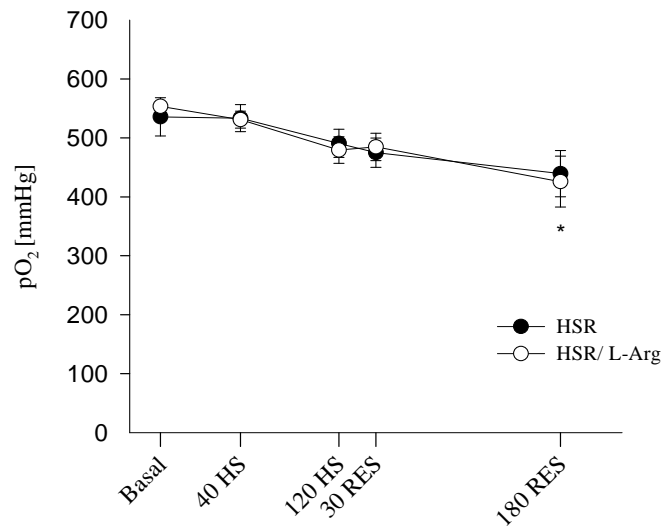


Abbildung 19: pO₂ des Spenders im arteriellen Blut. * $p < 0,05$ vs. basal, 40 HS.

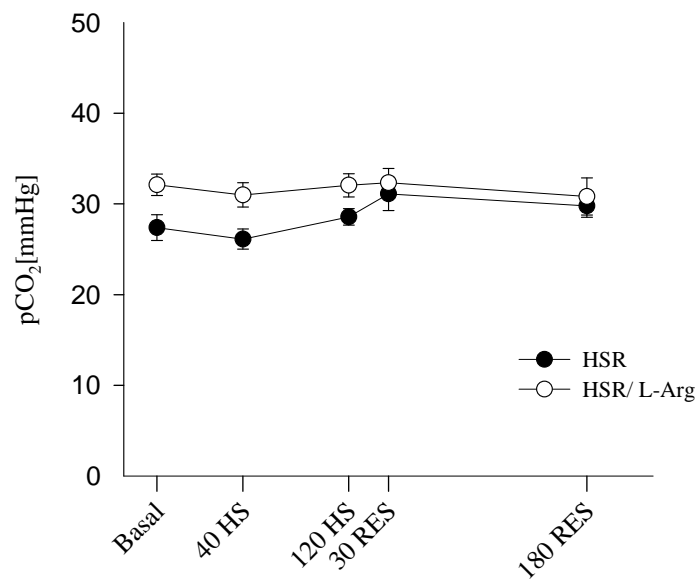


Abbildung 20: pCO₂ des Spenders im arteriellen Blut.

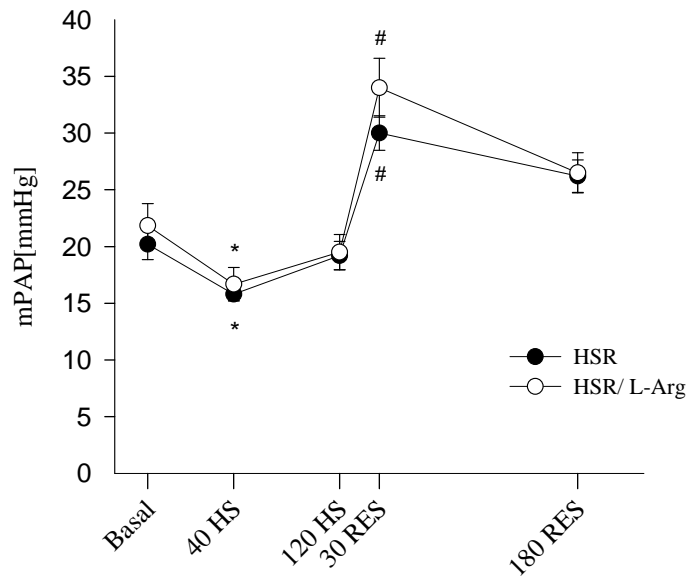


Abbildung 21: mPAP des Spenders.* $p < 0,05$ vs. basal, 120 HS, 30 RES, 180 RES, # $p < 0,05$ vs. basal, 40 HS, 120 HS, 180 RES.

Der pulmonalarterielle Druck fiel 40 Minuten nach Induktion des hämorrhagischen Schocks signifikant ($p < 0,05$) ab. Vor allem in der frühen Resuscitationszeit, zeigte sich eine signifikante Zunahme ($p < 0,05$). Unterschiede zwischen den Gruppen ergaben sich nicht.

Die folgende Tabelle (Tab. 6) zeigt eine Aufstellung von mPAP sowie arterieller Blutgase der Kontrolltiere und beider Schockgruppen unmittelbar vor Organentnahme.

Tabelle 6: Arterielle Blutgase und mPAP vor Explantation.

	Kontrolle	Schock	Arginin
PaO ₂ [mmHg]	509 ± 17	439 ± 39	426 ± 43
PaCO ₂ [mmHg]	32 ± 1	30 ± 1	31 ± 2
mPAP [mmHg]	23 ± 1,6	26 ± 1	27 ± 2

Vor Explantation ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der arteriellen Blutgase oder des mPAP (Tab. 6).

4.1.3 Hämoglobin- und Leukozytenkonzentration

In der akuten Schockphase konnte kein Hb-Abfall gemessen werden. Erst nach Resuscitation fiel der Hämoglobin-Wert signifikant auf Werte zwischen 4-5 g/dl ab. Gruppenunterschiede zeigten sich nicht (Abb. 22). Bereits im Schock kam es zu einer Leukozytose mit signifikanter Erhöhung ($p < 0,05$) der Leukozyten und einem Maximum 120 min nach Beginn des hämorrhagischen Schocks (Abb. 23). Gruppenunterschiede konnten nicht festgestellt werden.

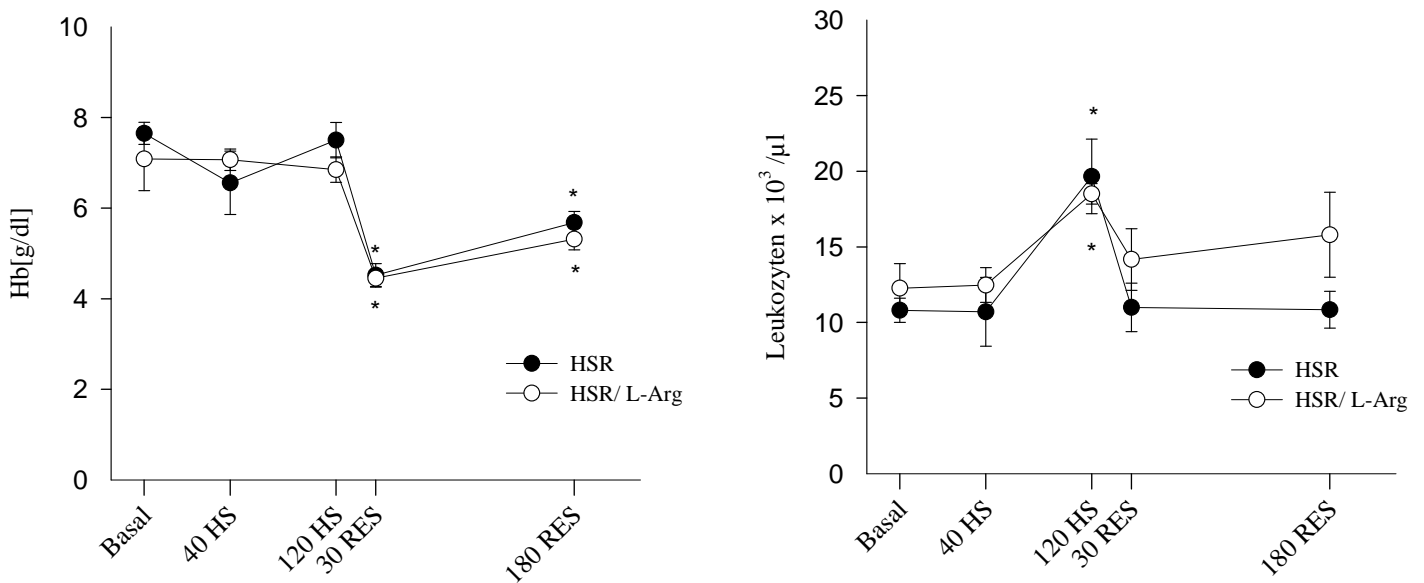


Abbildung 22: Hb des Spenders. * $p < 0,05$ vs. basal.

Abbildung 23: Leukozyten des Spenders. * $p < 0,05$ vs. basal.

In den letzten Messzeitpunkten vor Explantation (180 RES für die HSR und HSR/ L-Arg Gruppe, sowie direkt nach der Spenderoperation in der Kontrollgruppe) zeigte sich ein signifikanter Hb-Abfall in der Schock- und L-Arginin-Gruppe ($p < 0,05$) im Vergleich zur Kontrolle (Tab. 7).

Tabelle 7: Hb und Leukozyten vor Explantation. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle.

	Kontrolle	Schock	L-Arginin
Hb [g/dl]	7,8 ± 0,3	5,7 ± 0,2*	5,3 ± 0,2*
Leukozyten x 10 ³ /μl	12,4 ± 1,4	10,8 ± 1,2	15,8 ± 2,8

4.2 Untersuchungsergebnisse Transplantatlunge

Ein signifikanter Unterschied der Kaltlagerungs- und Warmischämiezeiten konnte ausgeschlossen werden (Tab. 8).

Tabelle 8: Kaltlagerungs- und Warmischämiezeit der verschiedenen Gruppen.

	Kontrolle	HSR	HSR/ L-Arg
Kaltlagerung (h)	17,90 ± 2,70	17,97 ± 2,71	18,13 ± 2,73
Warmischämie (h)	1,04 ± 0,16	1,08 ± 0,17	1,07 ± 0,16

4.2.1 Makrohämodynamik beim Empfänger

Um die Auswirkungen der Transplantation auf die Makrohämodynamik der Empfänger zu erfassen, wurden der mittlere arterielle Blutdruck, die Herzfrequenz, das Herzminutenvolumen sowie der systemvaskuläre Widerstand bestimmt.

Der mittlere arterielle Blutdruck (Abb. 24) und die Herzfrequenz (Abb. 25) wiesen keine signifikanten Zeit- oder Gruppenunterschiede auf. Bei den unbehandelten Empfängern der Schockgruppe zeigten sich niedrigere MAP-Werte. Die Herzfrequenz in der L-Arginingruppe war leicht erhöht.

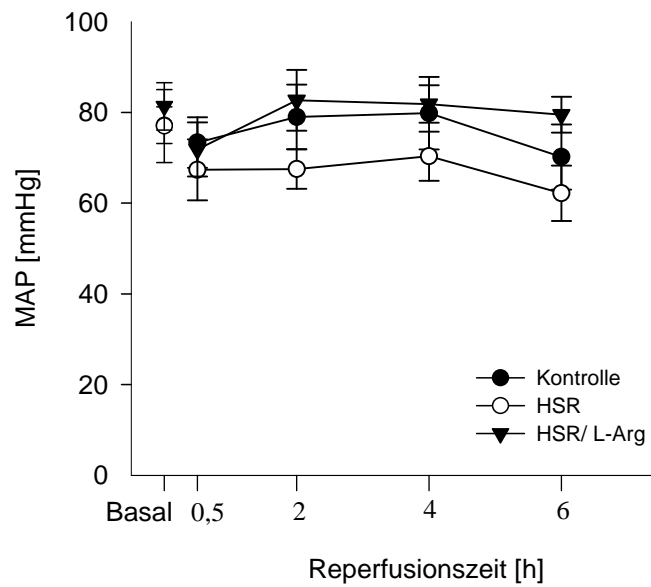


Abbildung 24: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) des Empfängers.

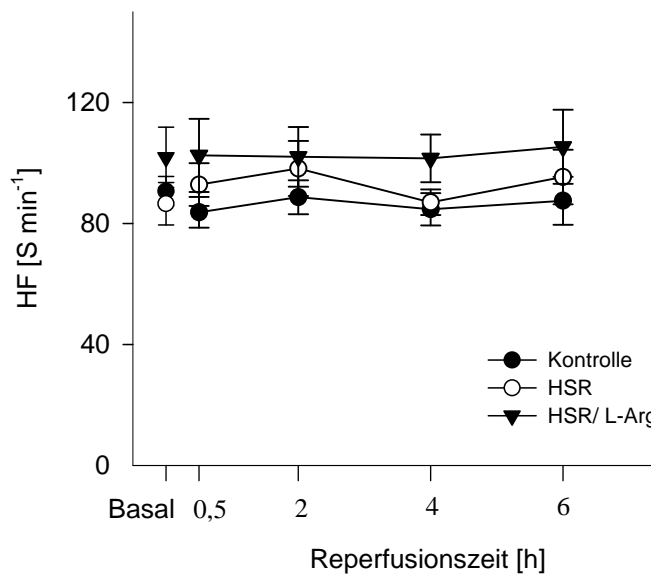


Abbildung 25: Herzfrequenz des Empfängers.

In der Schockgruppe war das Herzminutenvolumen (Abb. 26) nach 30 Minuten Reperfusion gegenüber den anderen Gruppen signifikant reduziert. In der L-Arginingruppe war der CO nach 6 h Reperfusion signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Signifikante Unterschiede innerhalb der Gruppen zeigten sich nicht.

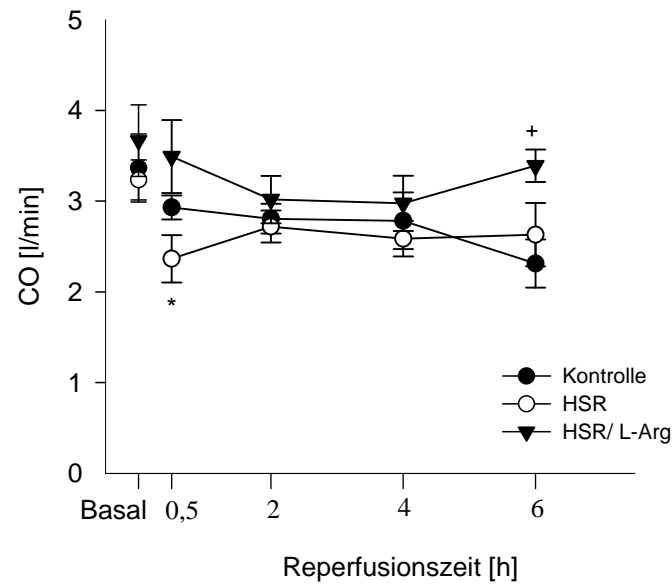


Abbildung 26: Herzminutenvolumen des Empfängers. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, HSR/L-Arg, + $p < 0,05$ vs. Kontrolle.

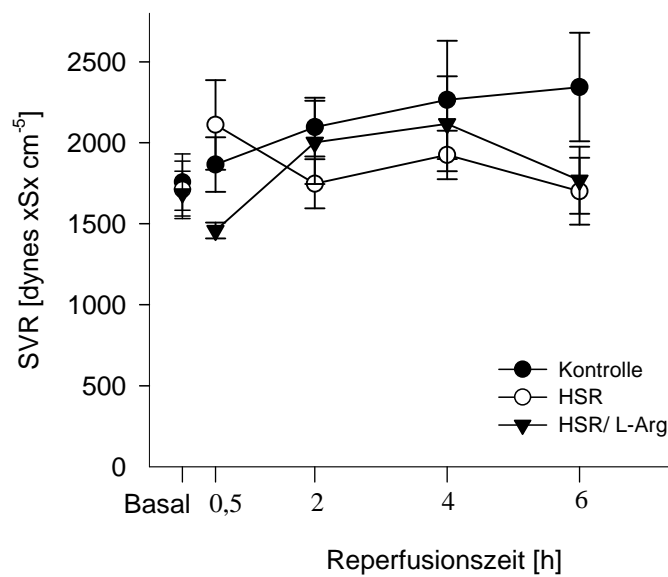


Abbildung 27: Systemvaskulärer Widerstand des Empfängers.

Beim systemvaskulären Widerstand (Abb. 27) bestanden keine signifikanten Zeit- oder Gruppenunterschiede.

4.2.2 Gasaustausch

Ein zentraler Parameter der Transplantatfunktion ist der arterielle Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck (Abb. 28/29). Hämorrhagischer Schock und Resuscitation beim Spender führten zu einer signifikanten Verschlechterung des Gasaustausches beim unbehandelten Empfängertier nach Transplantation der so vorgeschädigten Lungen. Bereits nach 30 Minuten zeigte sich in der HSR-Gruppe ein signifikant schlechterer Sauerstoffpartialdruck als in den anderen Gruppen ($p < 0,05$). Der Kohlendioxidpartialdruck stieg während des Messzeitraums kontinuierlich an und war nach 4h signifikant höher ($p < 0,05$) als in der Kontroll- und HSR/ L-Arg-Gruppe.

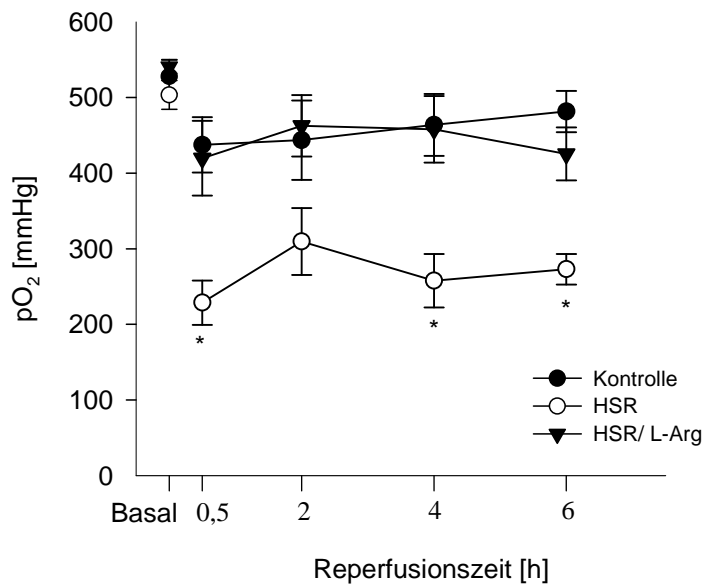


Abbildung 28: Sauerstoffpartialdruck des Empfängers. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, HSR/ L-Arg.

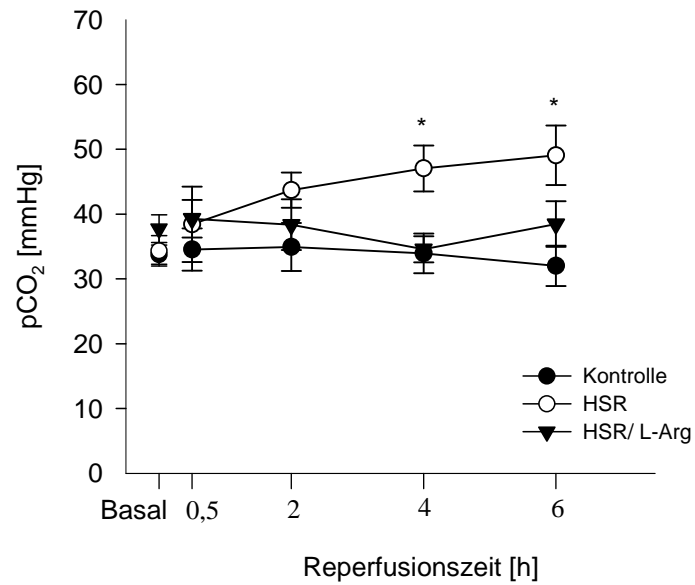


Abbildung 29: Kohlendioxidpartialdruck des Empfängers. *p < 0,05 vs. Kontrolle, HSR/ L-Arg.

4.2.3 Pulmonale Hämodynamik

In der HSR-Gruppe lag ein höherer PVR im Vergleich zu den anderen Gruppen vor, jedoch ohne signifikante Unterscheidung (p < 0,05).

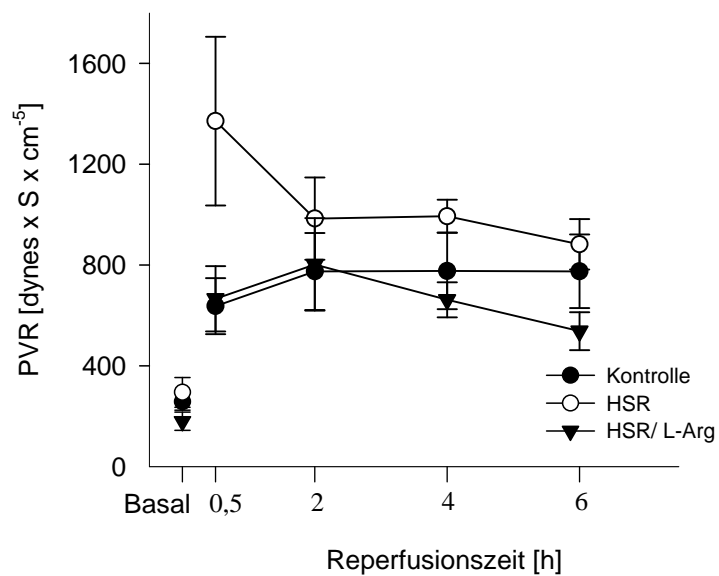


Abbildung 30: Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR) der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion des Transplantats.

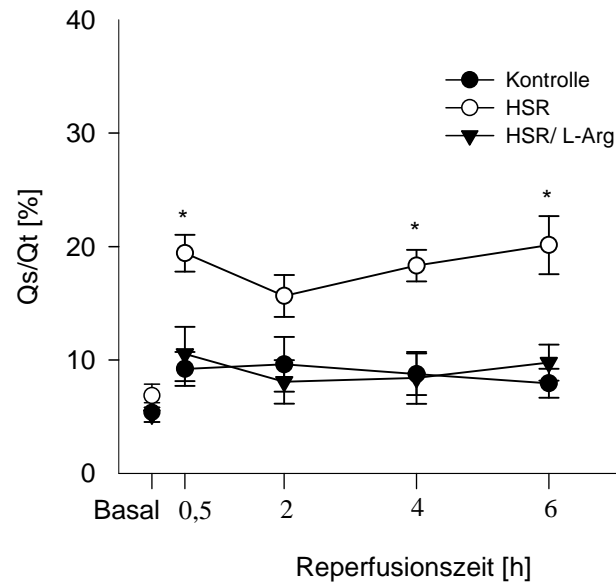


Abbildung 31: Pulmonale Shuntfraktion der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion des Transplantats. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, HSR/L-Arg.

Die Shuntfraktion (Abb. 31) gibt den nicht oxygenierten Anteil des Herzzeitvolumens wieder. Bei intakter Mikrozirkulation, mit einer homogenen Durchblutung der Lunge, zeigt sich eine niedrige Shuntfraktion. In der HSR-Gruppe ergab sich ein signifikanter Anstieg der Shuntfraktion in der Transplantatlunge und somit auch ein signifikanter Gruppenunterschied zur Kontroll- und Therapiegruppe ($p < 0,05$).

4.2.4 Lungencompliance und Beatmungsdruck

Als Kriterium für die Elastizität der Lunge dient die dynamische Lungencompliance (Abb. 32). Diese zeigte sich in allen Untersuchungsgruppen nach der Transplantation signifikant verschlechtert ($p < 0,05$). Die Lungen der HSR-Gruppe wiesen die geringste Compliance, mit einem signifikanten Gruppenunterschied nach 30 min zur Kontrollgruppe, auf ($p < 0,05$). Ein signifikanter Unterschied zur L-Arginingruppe ergab sich nicht.

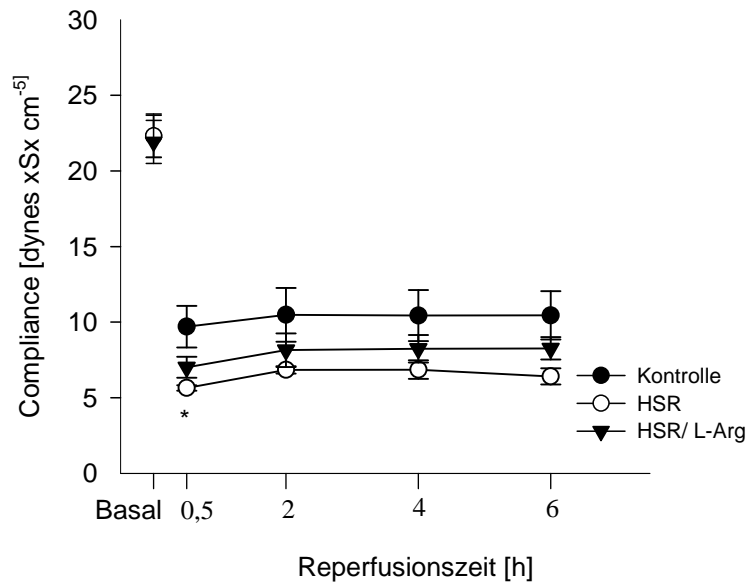


Abbildung 32: Dynamic Lung Compliance. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle.

Der Beatmungs-Spitzendruck war in der HSR-Gruppe am höchsten. Nach 30 Minuten zeigte sowohl die HSR- als die L-Arginingruppe ein signifikant höheren Wert ($p < 0,05$) als die Kontrollgruppe. Im Verlauf kam es in der L-Arginingruppe zu einer Druckabnahme, so dass nach 6h Reperfusion neben der Kontrollgruppe nun auch die L-Arginingruppe signifikant bessere Werte zeigte ($p < 0,05$) als die HSR-Gruppe (Abb. 33).

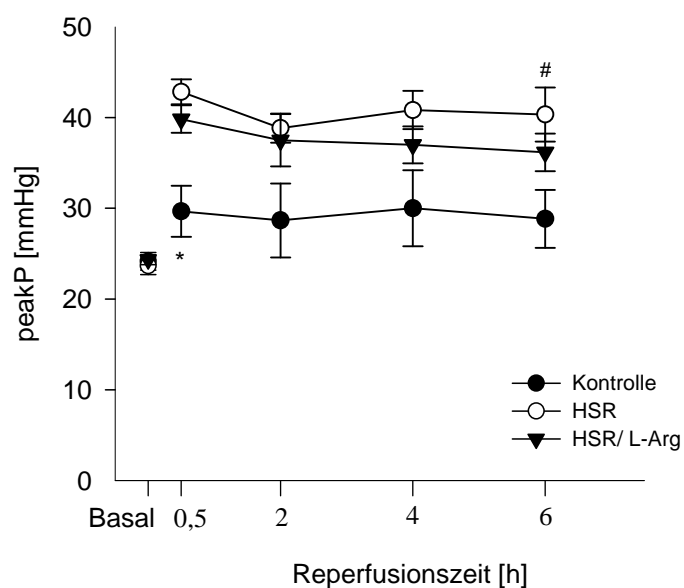


Abbildung 33: Beatmungsdruck (peakP). * $p < 0,05$ vs. Schock, HSR/ L-Arg, # $p < 0,05$ vs. Kontrolle, HSR/ L-Arg.

4.2.5 Feucht/Trockengewichtsquotient und absolute Gewichtszunahme

Die Transplantatlungen der HSR-Gruppe hatten das ausgeprägteste Ödem (Abb. 34) und entsprechend die größte Gewichtszunahme (Abb. 35). Signifikanzen ($p < 0,05$) zeigte sich nicht.

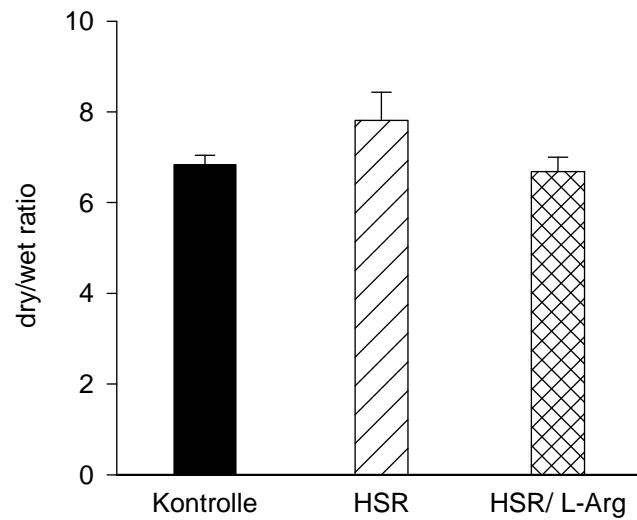


Abbildung 34: Feucht/Trockengewichtsquotient der Transplantatlunge.

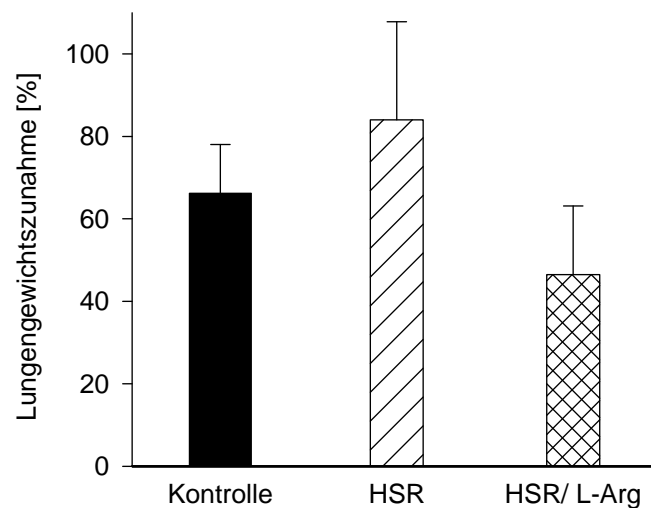


Abbildung 35: Lungengewichtszunahme der Transplantatlunge.

4.2.6 Inflammatorische Reaktion im alveolären Kompartiment (BALF-Analyse)

In der BALF ergab die Zelldifferenzierung einen in der Schockgruppe (HSR) erhöhten, jedoch nicht signifikanten ($p < 0,05$), Anteil an neutrophilen Granulozyten (Abb. 36). Der prozentuale Anteil der Alveolarmakrophagen (AM) war gegenüber den anderen Gruppen reduziert. Die HSR/ L-Arg Gruppe hingegen zeigte einen neutrophilen Anteil vergleichbar zur Kontrollgruppe.

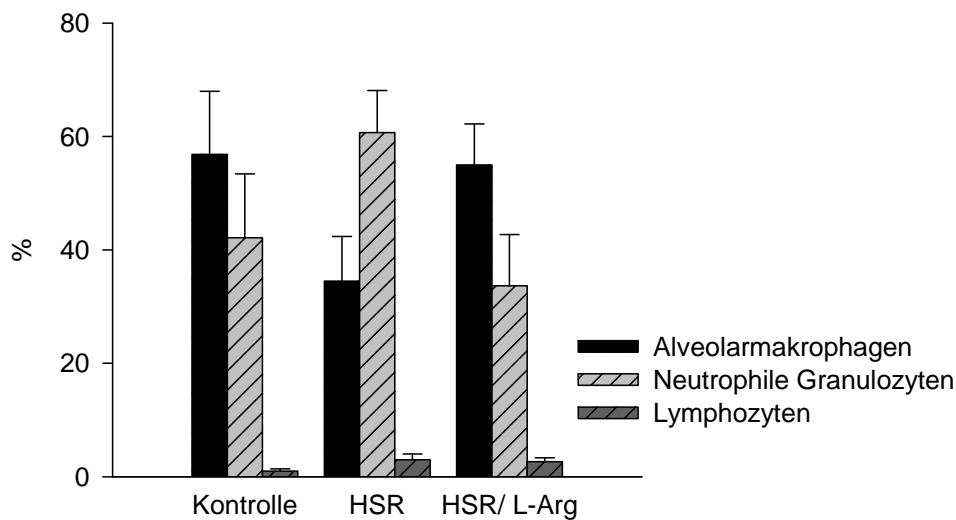


Abbildung 36: Zelldifferenzierung der BALF der Transplantatlunge. Es wird der prozentuale Anteil der jeweiligen Zellen im Zellausstrich dargestellt.

Die Kalium- und Lactatkonzentration in der BALF (Abb. 37/38) stieg in der Schockgruppe deutlich gegenüber der Kontrollgruppe an. Eine Signifikanz ergab sich jedoch nicht ($p < 0,05$). In der L-Arginigruppe waren sowohl die Kaliumkonzentration als auch die Lactatkonzentration vergleichbar zur Kontrollgruppe.

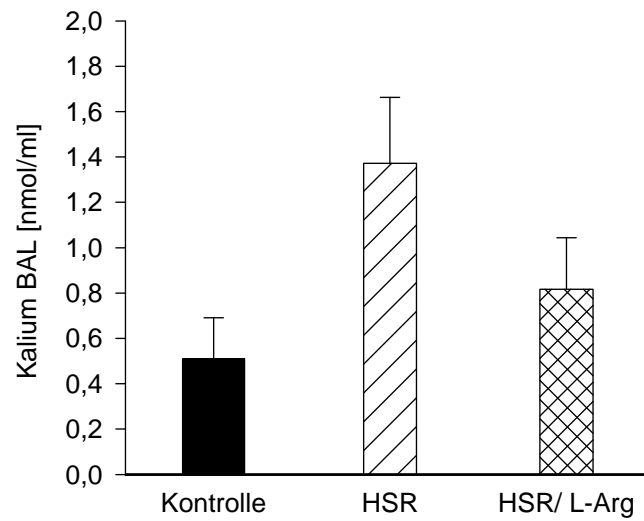


Abbildung 37: Kaliumkonzentration in der BAL der Transplantatlunge.

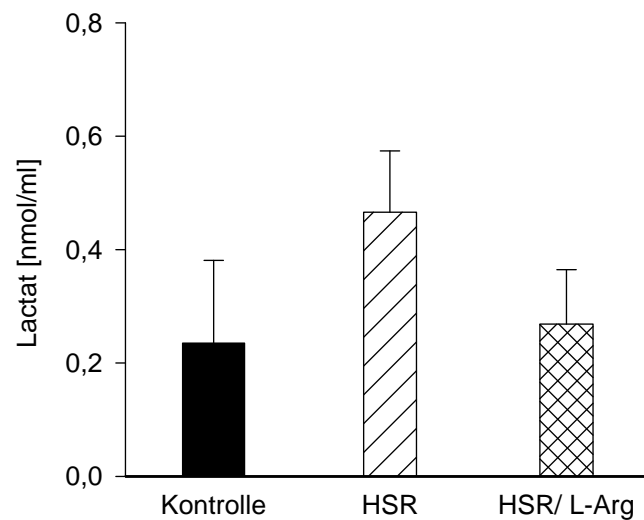


Abbildung 38: Lactatkonzentration in der BAL der Transplantatlunge.

Die Messungen der Albuminkonzentration in der BALF zeigte im Vergleich zur Kontroll- und HSR/ L-Arg-Gruppe eine nicht signifikante Zunahme in der Schockgruppe (Abb. 39).

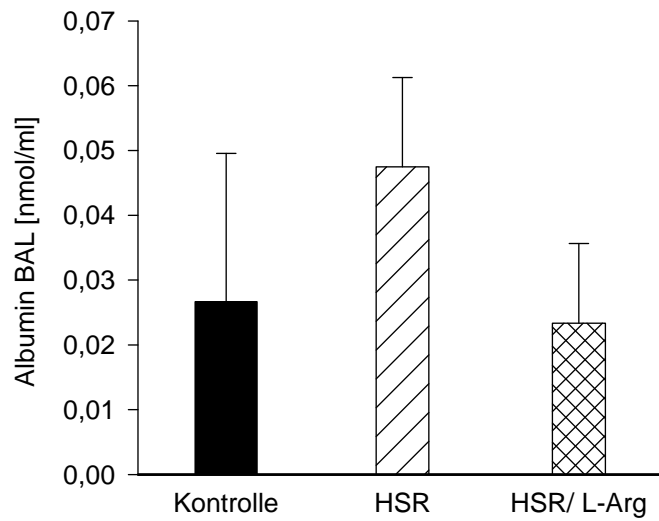


Abbildung 39: Albuminkonzentration in der BAL der Transplantatlunge.

Als Parameter für den oxidativen Zellschaden in der BALF wurden Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS) bestimmt. In den Messungen zeigte sich in den transplantierten Lungen signifikant erhöhte Werte in der HSR-Gruppe, und nahezu gleiche Werte in der HSR/ L-Arg- und Kontrollgruppe (Abb. 40).

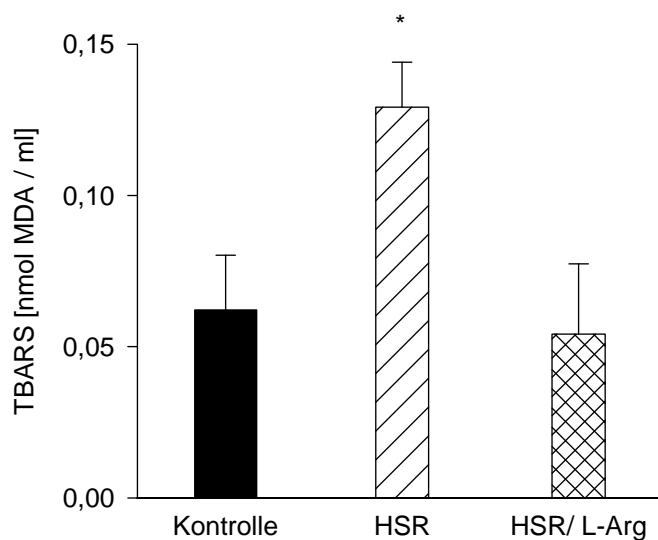


Abbildung 40: Lipidperoxidation in der BAL der Transplantatlunge. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, HSR/ L-Arg.

Zur Quantifizierung der Effekte des hämorrhagischen Schocks bzw. der Therapie mit L-Arginin auf die leukozytäre Radikalproduktion wurde der oxidative Burst in Leukozyten der BALF bestimmt. Die spontane Radikalproduktion der PMN wurde mit Dichlorofluorescein (DCF) gemessen und zeigte keinen Gruppenunterschied (Abb. 41). Auch nach Stimulation mit PMA zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen, jedoch die höchste Radikalproduktion in der HSR-Gruppe.

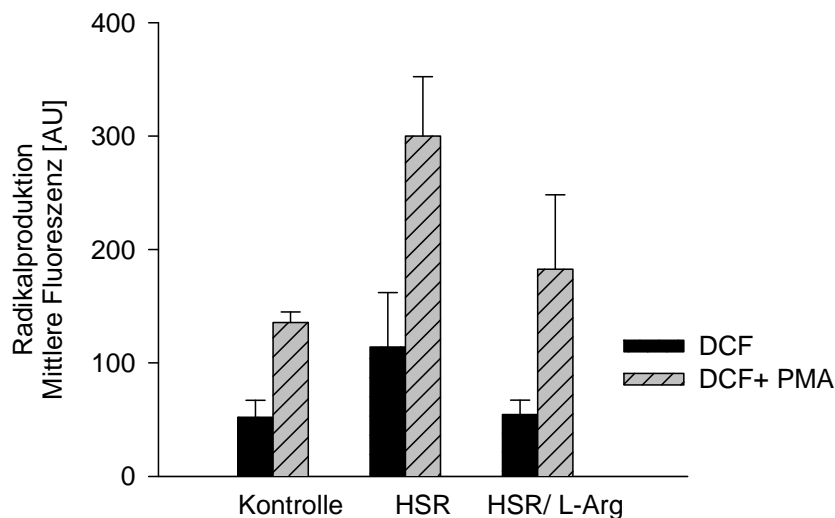


Abbildung 41: Oxidativer Burst der Leukozyten in der BALF der Transplantatlunge.

4.2.7 Inflammatorische Reaktion im Lungengewebe

Zur Quantifizierung morphologischer Veränderungen der Transplantatlunge nutzen wir ein semiquantitatives Score-System, das speziell zur Charakterisierung histologischer Veränderungen an Lungentransplantate entwickelt wurde (69) (Tab. 9). Der Gesamtscore setzt sich aus mehreren Einzelkomponenten wie Endothelschädigung, intraalveoläres Ödem, Zellnekrose und Leukozytenadhäsion zusammen.

Tabelle 9: Histologie-Score der Transplantatlunge. Semiquantitative Auswertung (Score 0 = normal, 1 = geringe-, 2 = mittelgradige-, 3 = hochgradige Veränderung) nach Schweregrad der Schädigung. Werte als MW \pm SEM.

	Kontrolle	HSR	HSR/ L-Arg
Intraalveoläres Ödem	1,2 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2	1,3 \pm 0,2
Interstitielles Ödem	0	0,2 \pm 0,2	0,2 \pm 0,2
Intraalveoläre Leukozyteninfiltration	1,9 \pm 0,4	2,3 \pm 0,3	1,9 \pm 0,3
Intraalveoläre Fibrinexsudation	0,5 \pm 0,3	1 \pm 0,4	0,5 \pm 0,2
Endothelschaden	2,5 \pm 0,2	2,8 \pm 0,2	2,7 \pm 0,2
Leukozytenadhäsion	1,9 \pm 0,4	2,3 \pm 0,2	1,9 \pm 0,3
Zellnekrose	0	0	0
Gesamtschaden	9,6 \pm 0,2	11,9 \pm 0,2	10,0 \pm 0,2

Es ergaben sich keinerlei Signifikanzen zwischen den Gruppen. Der Gesamtschaden war jedoch in der Schockgruppe am höchsten, hingegen in der Kontroll- und L-Arginingruppe nahezu identisch.

Die Myeloperoxidasereaktion, als Marker für die Leukozytenrekrutierung ins Gewebe (Abb. 42), zeigte die höchste Werte in der Schockgruppe. Die Kontrollgruppe und die HSR/ L-Arginingruppe zeigten ähnliche Werte. Die Marker der Lipidperoxidation (TBARS) im Gewebe unterschieden sich hingegen nicht (Abb. 43).

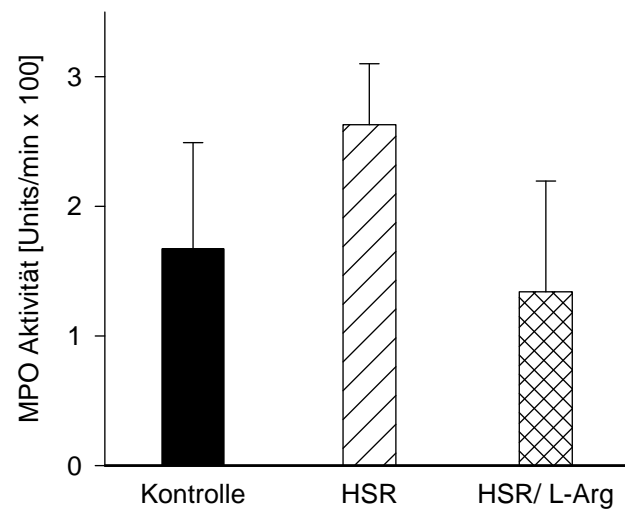


Abbildung 42: Myeloperoxidase-Aktivität im Transplantat.

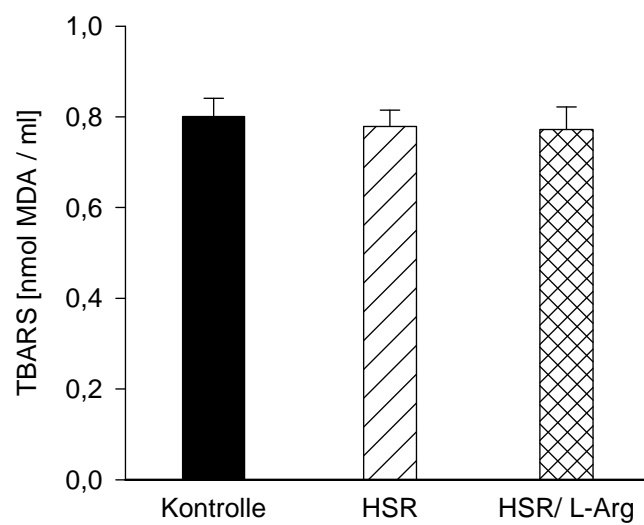


Abbildung 43: Lipidperoxidation im Transplantat.

4.3 Untersuchungsergebnisse Nativlunge

Nachfolgend werden die Ergebnisse der Analyse der kontralateralen Nativlunge im Empfänger beschrieben. Obwohl die Nativlunge nicht transplantiert wurde, kann Ihre Funktion im Rahmen des „distant organ injury“ beeinträchtigt werden.

Die Messwerte geben die Parameter in isolierter Ventilation und Perfusion der kontralateralen Nativlunge bei den Empfängertieren basal, 3, 5 und 6 Stunden nach Reperfusionbeginn wieder.

4.3.1 Systemische Hämodynamik

Insgesamt war der MAP in der L-Arginigruppe höher als in der HSR-Gruppe (Abb. 44), zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe.

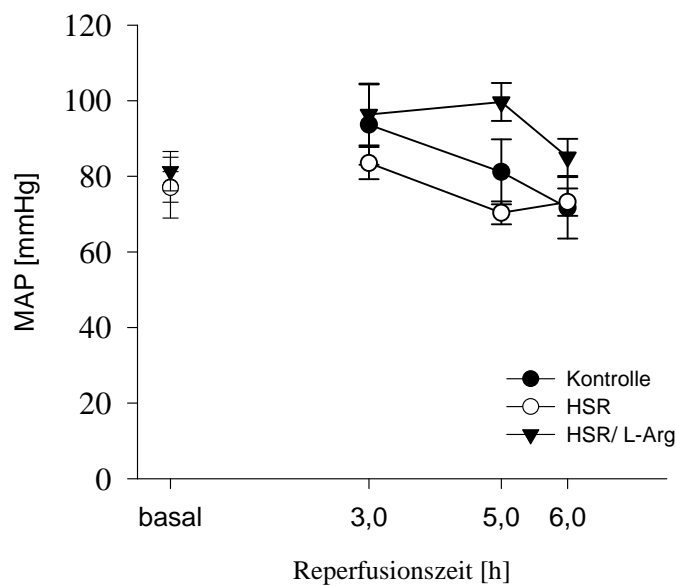


Abbildung 44: Mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

Die Herzfrequenz war in der L-Arginingruppe höher, jedoch ohne signifikante Gruppenunterschiede (Abb. 45).

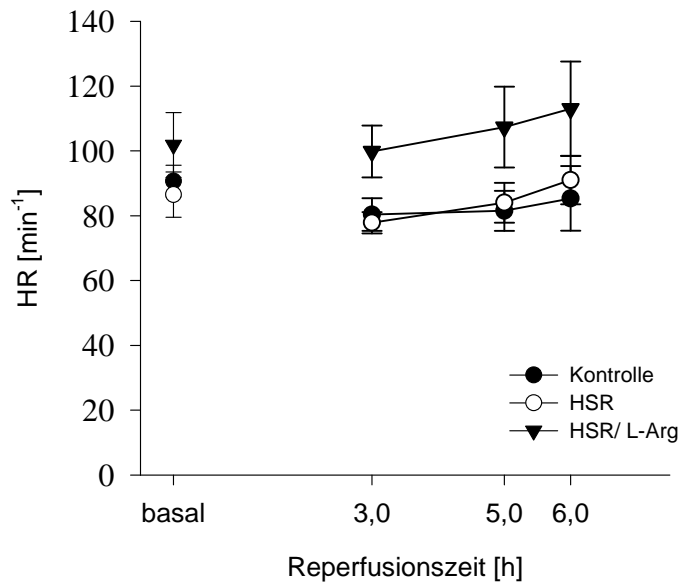


Abbildung 45: Herzfrequenz (HR) der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge..

Das Herzminutenvolumen war in der L-Arginingruppe im Vergleich zu den anderen Gruppen höher (Abb. 46). Es bestand zu keiner Zeit ein Gruppenunterschied.

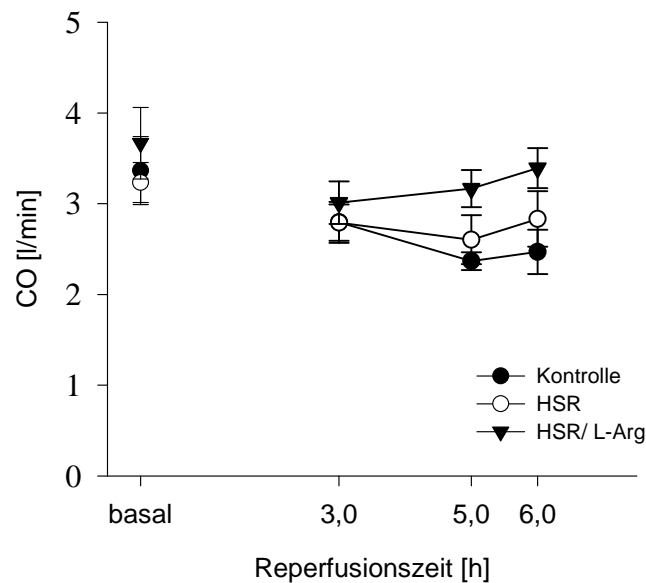


Abbildung 46: Herzminutenvolumen (CO) der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

Der systemvaskuläre Widerstand war in allen Untersuchungsgruppen drei Stunden nach Reperfusion angestiegen (Abb. 47). Es bestanden keine Zeit- oder Gruppenunterschiede.

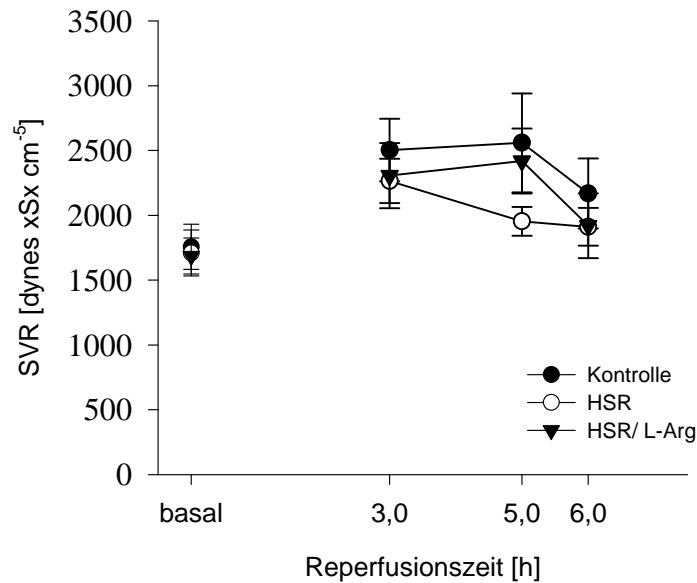


Abbildung 47: Systemvaskulärer Widerstand der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

4.3.2 Gasaustausch

Im Gegensatz zur Transplantatlungen (TX) zeigte sich in der Analyse des Gasaustausches der Nativlunge (NL) kein signifikanter Abfall des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks (Abb. 48). Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen.

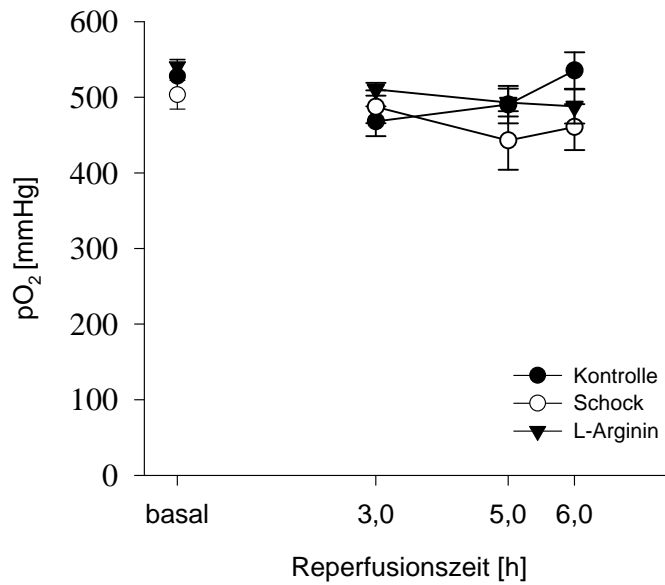


Abbildung 48: Sauerstoffpartialdruck der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

Der Kohlendioxidpartialdruck war erhöht in der HSR-Gruppe jedoch erhöht und stieg kontinuierlich bis zum Versuchsende an (Abb. 49).

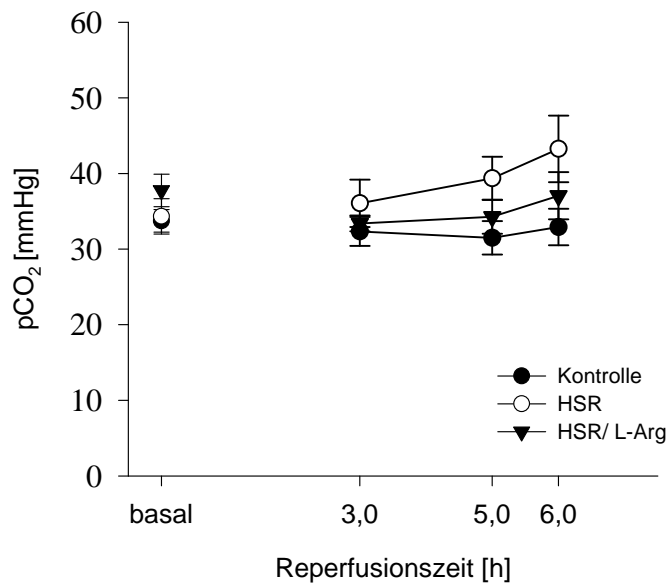


Abbildung 49: Kohlendioxidpartialdruck der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

4.3.3 Pulmonale Hämodynamik

Der pulmonalvaskuläre Widerstand war in allen Gruppen nach 3 h nach Transplantation erhöht. Nach fünf Stunden Reperfusion erreichten die Kontroll- und die L-Arginingruppe annähernd gleiche Werte, wohingegen die Schockgruppe einen deutlich höheren Widerstand aufwies (Abb. 50).

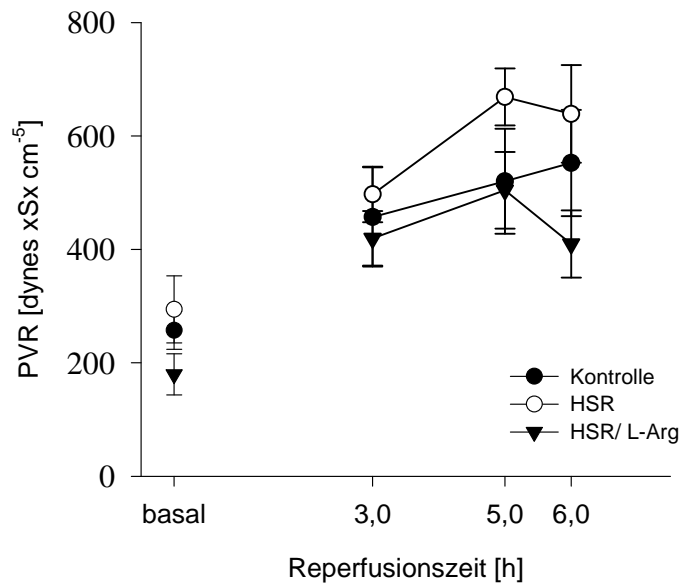


Abbildung 50: Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR) der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

Das Shuntvolumen war während des gesamten Messzeitraums in der Therapiegruppe am niedrigsten, während die Schockgruppe die höchsten Werte aufwies (Abb. 51).

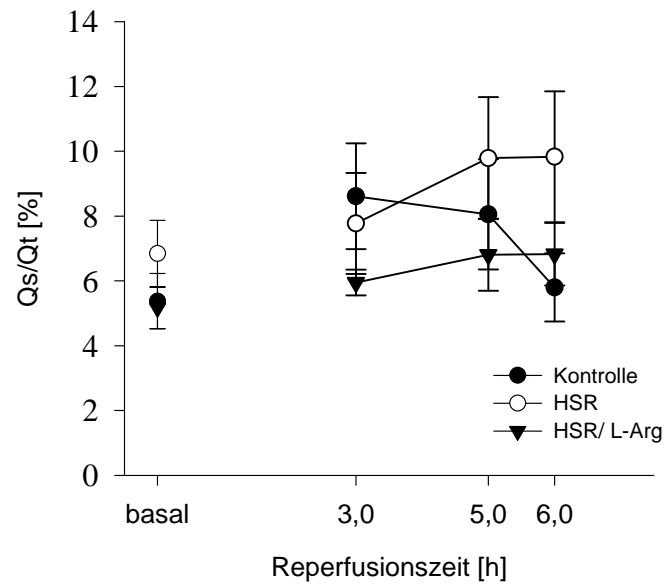


Abbildung 51: Pulmonale Shuntfraktion der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

4.3.4 Lungencompliance und Beatmungsdruck

Die Lungencompliance der kontralateralen Nativlungen aller Versuchstiere war ebenfalls deutlich vermindert gegenüber Werten vor der Transplantation. Signifikante Gruppenunterschiede konnten nicht festgestellt werden. Die HSR-Gruppe zeigte die schlechteste Compliance der Nativlungen (Abb.52).

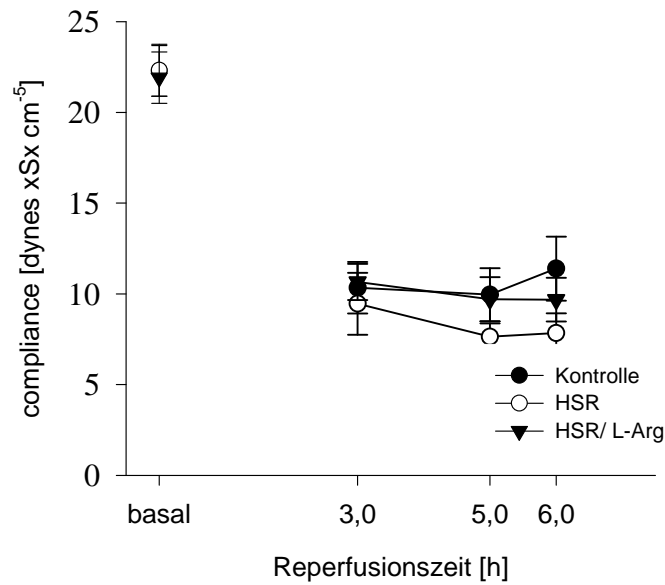


Abbildung 52: Dynamic Lung Compliance der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

Die Messung des Beatmungsdrucks (Abb. 53) ergab für die Kontroll- und L-Arginingruppe fast identische Werte, während die Schockgruppe mit Messungen knapp unter 40 mmHg am Ende des Versuchs den höchsten peakP aufwies.

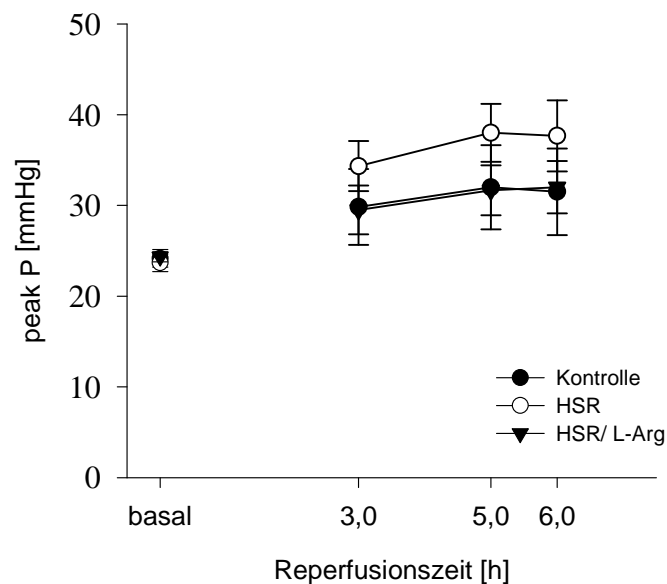


Abbildung 53: Beatmungsdruck (peakP) der Empfängertiere bei isolierter Ventilation und Perfusion der Nativlunge.

4.3.5 Feucht/Trockengewichtsquotient

Der Feucht/Trockengewichtsquotient der Nativlungen war in der HSR-Gruppe am höchsten, jedoch ohne Signifikanz ($p < 0,05$) (Abb. 54).

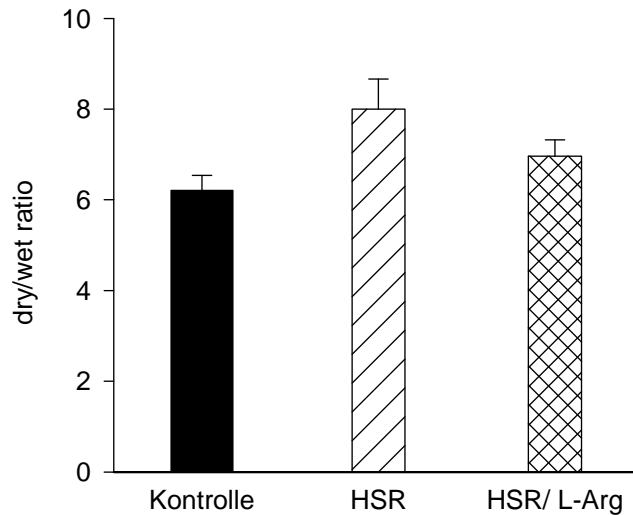


Abbildung 54: Feucht/Trockengewicht der Nativlunge.

4.3.6 Inflammatorische Reaktion im alveolären Kompartiment (BALF)

In der Zelldifferenzierung der BALF fanden sich keine signifikanten Gruppenunterschiede zwischen den Nativlungen. Gegenüber den TX-Lungen zeigten sich die neutrophilen Granulozyten aber deutlich reduziert (Abb. 55).

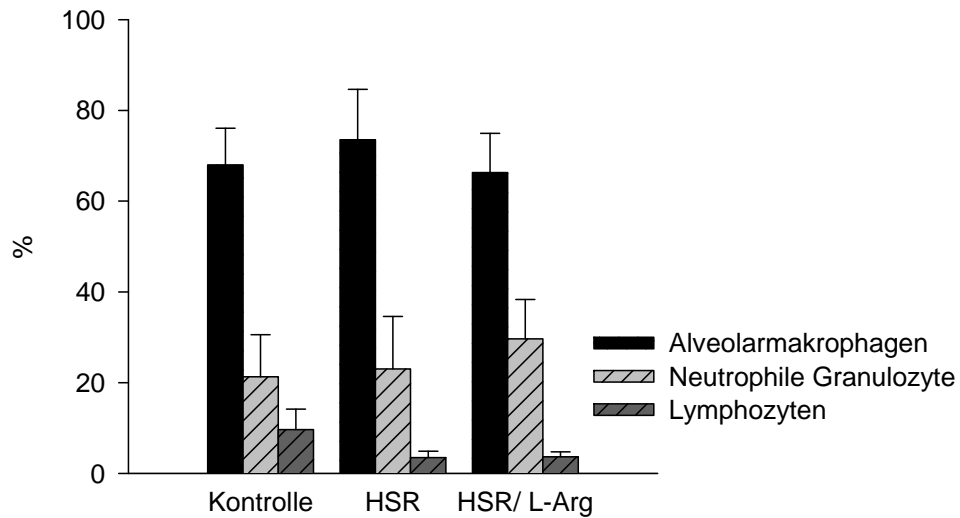


Abbildung 55: Zelldifferenzierung der BAL der Nativlunge.

Die Kaliumkonzentrationen in der BALF der Nativ-Lunge (NL) unterschieden sich nicht signifikant zwischen den verschiedenen Gruppen. Die höchsten Konzentrationen wurden in der Schockgruppe gemessen (Abb. 56).

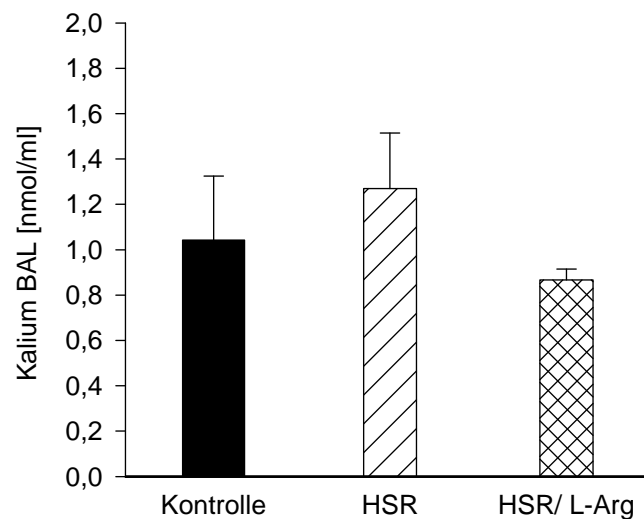


Abbildung 56: Kaliumkonzentration in der BALF der Nativlunge.

In der Schockgruppe konnte eine Erhöhung der Lactatkonzentration in der BALF im Gegensatz zur Kontrollgruppe beobachtet werden. Die Lactatkonzentration der Kontroll- und Therapiegruppe waren annähernd gleich (Abb. 57).

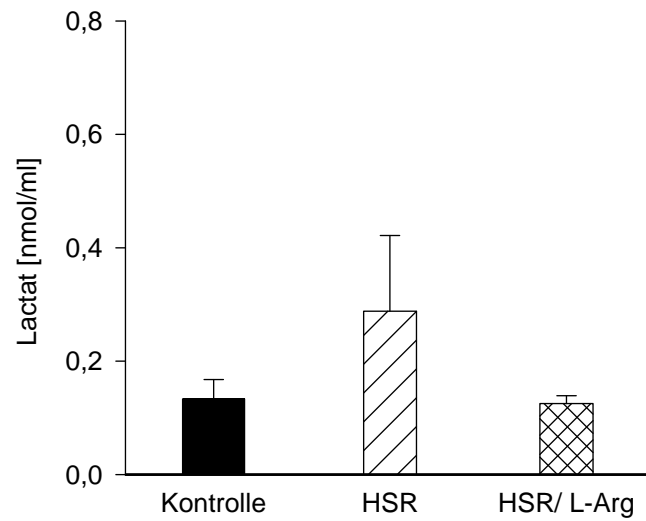


Abbildung 57: Lactatkonzentration in der BALF der Nativlunge.

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Albuminkonzentration in der BALF der drei Versuchsgruppen (Abb. 58).

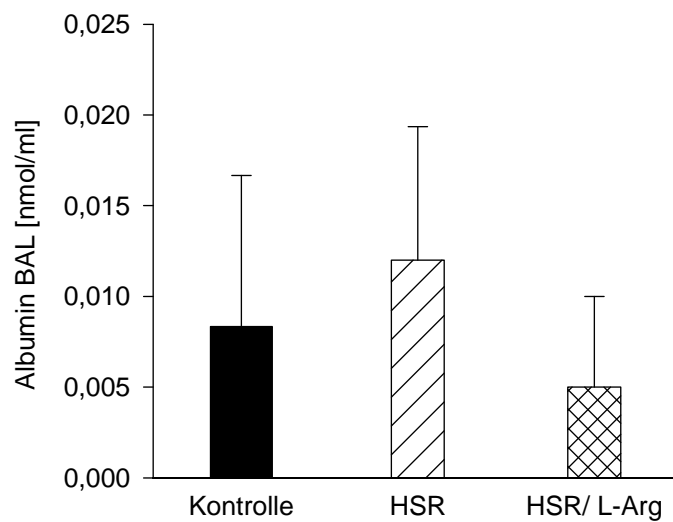


Abbildung 58: Albuminkonzentration in der BALF der Nativlunge.

Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede bei der Lipidperoxidation in der BAL zwischen den drei Therapiegruppen (Abb. 59). Es zeigten sich in der Therapiegruppe die höchsten Werte.

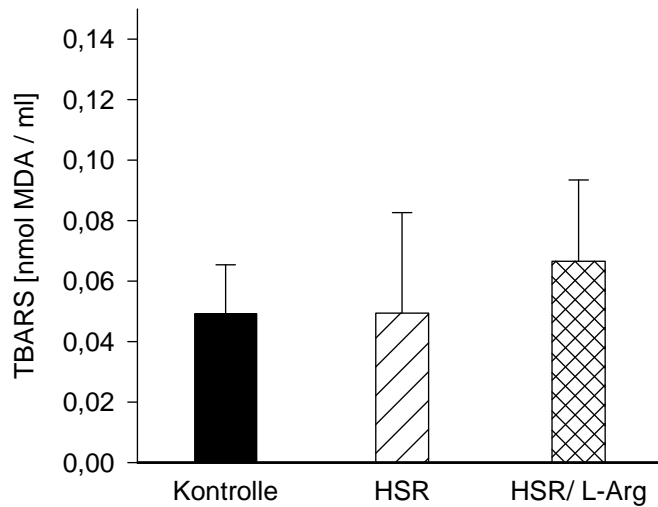


Abbildung 59: Lipidperoxidation in der BALF der Nativlunge.

Die spontane Radikalproduktion von Leukozyten in der BALF ergab keine Gruppenunterschiede. Tendenziell wurden die höchsten Werte in der HSR-Gruppe gemessen, wobei sich die Kontroll- und HSR/ L-Arginingruppe auf einem Niveau befanden. Auch nach Stimulation mit PMA zeigten sich keine Signifikanzen zwischen den Gruppen (Abb. 60).

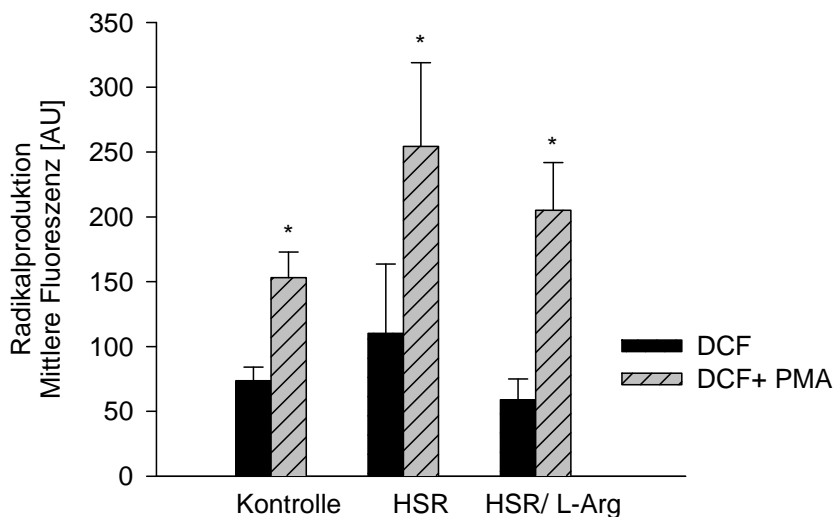


Abbildung 60: Oxidativer Burst der Leukozyten in der BALF der Nativlunge. * $p < 0,05$ vs. DCF.

4.3.7 Inflammatorische Reaktion im Lungengewebe

Insgesamt zeigte sich im Vergleich zur TX-Lunge ein niedriger Schädigungs-Score. Der Gesamtschaden war in der Kontrollgruppe am niedrigsten, während er in der HSR- und HSR/L-Arginingruppe etwa gleich starke Veränderungen festgestellt wurden (Tab. 10).

Tabelle 10: Histologie-Score der Nativlunge. Semiquantitative Auswertung (Score 0 = normal, 1 = geringe-, 2 = mittelgradige-, 3 = hochgradige Veränderung) nach Schweregrad der Schädigung. Werte als MW \pm SEM.

	Kontrolle	Schock	L-Arginin
Intraalveolärs Ödem	1,0 \pm 0	1,0 \pm 0	1,0 \pm 0
Interstitielles Ödem	0	0,2 \pm 0,2	0,2 \pm 0,2
Intraalveoläre Leukozyteninfiltration	0,6 \pm 0,3	1,3 \pm 0,3	1,8 \pm 0,2
Intraalveoläre Fibrinexsudation	0,2 \pm 0,2	0,5 \pm 0,2	0,7 \pm 0,2
Endothelschaden	1,7 \pm 0,2	2,0 \pm 0	2,1 \pm 0,1
Leukozytenadhäsion	1,2 \pm 0,2	1,2 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2
Zellnekrose	0	0	0
Gesamtschaden	5,6 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1	7,1 \pm 0,1

In der Nativlunge zeigte die Myeloperoxidase Reaktion der HSR-Gruppe im Vergleich zur Therapiegruppe erhöhte Werte. Nach Applikation von L-Arginin wurden hingegen deutlich reduzierte MPO-Werte gemessen (Abb. 61).

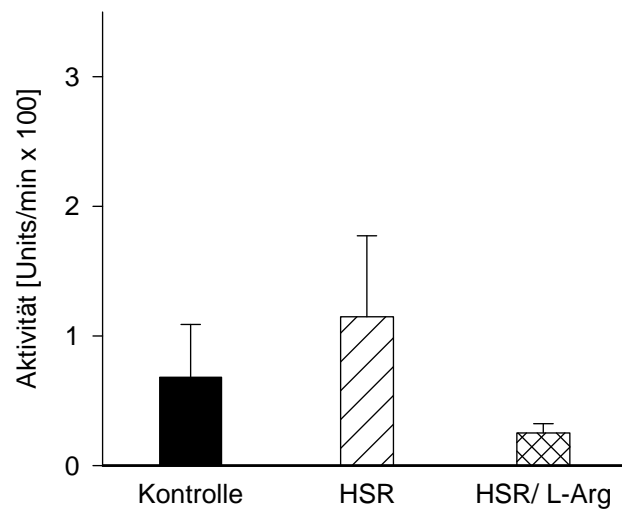


Abbildung 61: Myeloperoxidase-Aktivität der Nativlunge.

Die TBARS als Marker der Lipidperoxidation (Abb.62) zeigten im Gewebe nahe zu in allen drei Gruppen die gleichen Werte.

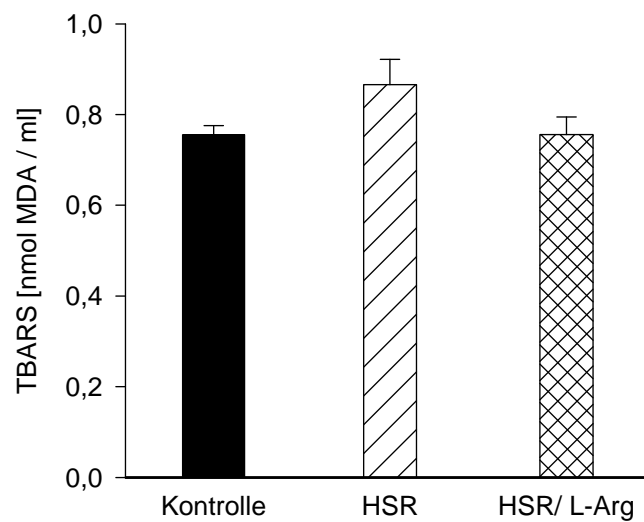


Abbildung 62: Lipidperoxidation in der Nativlunge.

4.3.8 Analyse der explantierten Spenderlungen (KL) nach hypothermer Konservierung

Um die Effekte des hämorrhagischen Schocks sowie der 18-stündigen hypothermen Konservierung in Perfadex auf die Lungen abschätzen zu können, wurden die KL-Lungen der Kontroll- (Kontroll KL) und Schockgruppe (Schock KL) mit den Pneumonektomielungen (PL) verglichen. Die KL-Lungen wurden dabei nicht transplantiert, sondern umgehend nach der Konservierungsphase auf morphologische Veränderungen untersucht. Die PL-Lungen wurden direkt nach Entnahme aus den Empfängertieren untersucht.

Im Vergleich zur Kontroll-KL und PL Lunge zeigte sich in der BALF der KL-Schockgruppe eine deutliche Erhöhung der Kalium-Konzentration (Abb. 63).

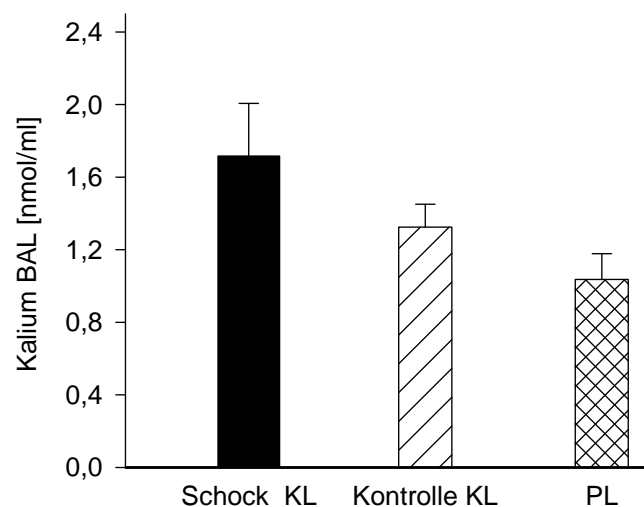


Abbildung 63: Kaliumkonzentration in der BAL

Der Feucht/Trockenquotient (Abb. 64) war in der KL-Schockgruppe signifikant erhöht gegenüber den Pneumonektomielungen ($p < 0,05$).

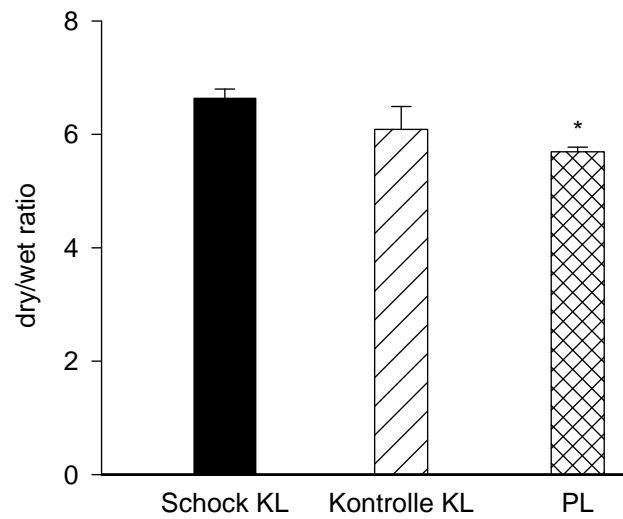


Abbildung 64: Feucht/Trockenquotient. *P < 0,05 vs. Schock KL

Die Myeloperoxidasereaktion (Abb. 65) als Zeichen der Leukozytenrekrutierung war in den KL Lungen der Schockgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht. Die Myeloperoxidasereaktion der KL Lungen zeigte sich wiederum auf einem deutlich niedrigerem Niveau als die der PL Lungen. Ein entsprechender signifikanter Unterschied war auch bei der Quantifizierung der Lipidperoxidation zu erkennen (Abb. 66).

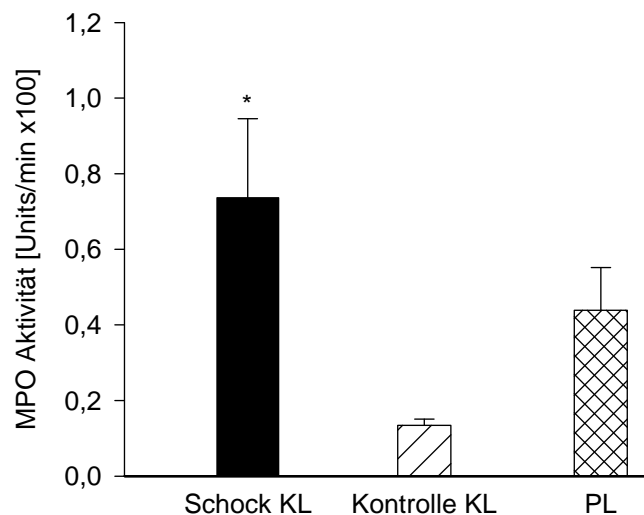


Abbildung 65: Myeloperoxidaseaktivität . *P < 0,05 vs. Kontrolle KL.

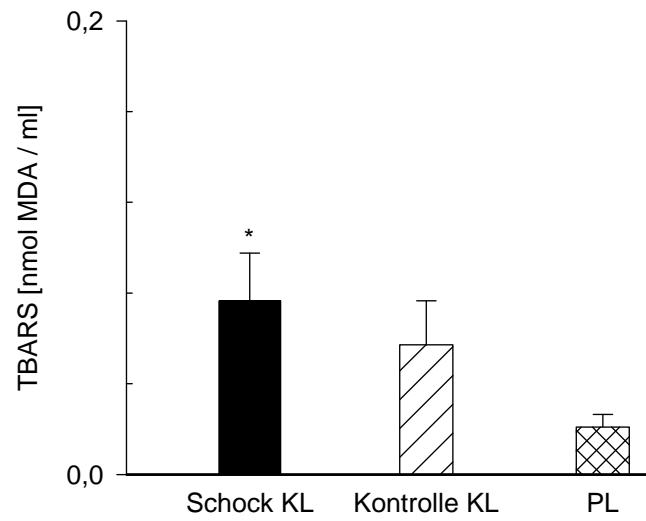


Abbildung 66: Lipidperoxidation in der BAL. *P < 0,05 vs. PL.

Bei der Zelldifferenzierung in der BALF fanden sich innerhalb der 3 Versuchsgruppen keine Unterschiede. Die prozentuale Zusammensetzung war in allen Gruppen nahezu identisch. (Abb. 67).

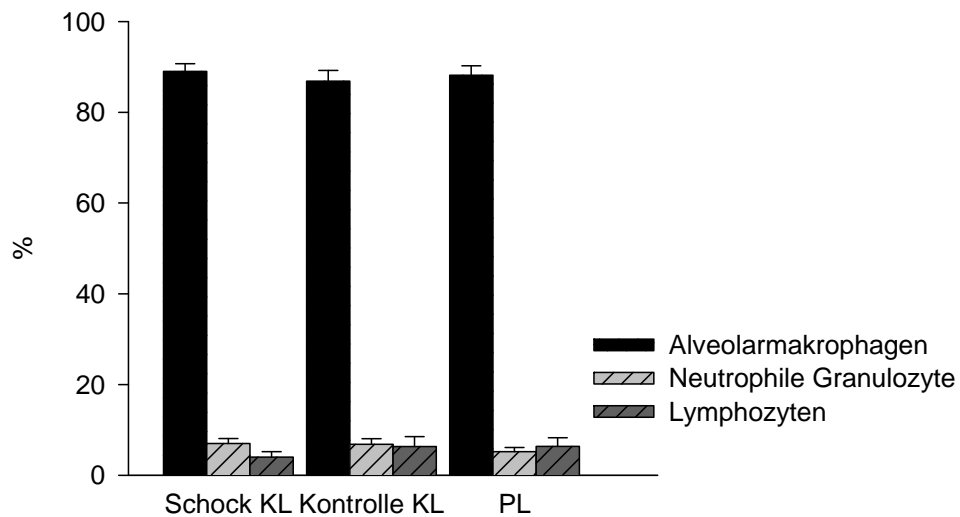


Abbildung 67: Zelldifferenzierung der BAL.

5 Diskussion

5.1 Diskussion des experimentellen Modells

Die experimentelle Lungentransplantation am Schwein stellt ein bewährtes Modell zur Untersuchung des Ischämie/Reperfusionsschadens (IRS) dar und erlaubt Vergleiche zur klinischen Situation beim Menschen (46). Auch die an dem Ischämie-Reperfusionsschaden beteiligten Pathomechanismen sind bei Schweinen nahezu identisch. Beispielsweise ist die Aktivität der Xanthin-Oxidase, die bei der Entstehung von Sauerstoffradikalen eine Rolle spielt, vergleichbar mit der des Menschen. Im Gegensatz dazu weisen Ratten eine wesentliche höhere Enzymaktivität der Xanthin-Oxidase auf (74), und sind somit als Modell nur bedingt geeignet. Auch Versuche mit Hunden sind aufgrund einer unterschiedlichen endothelialen NO-Freisetzung im Vergleich zum Menschen eingeschränkt verwendbar (75;76).

Für die Transplantationen verwendeten wir ein bereits etabliertes Modell, das auch von anderen Arbeitsgruppen für experimentelle Untersuchungen der frühen Transplantatfunktion eingesetzt wurde (44;69). Dieses Modell entspricht dem operativen Vorgehen bei der Einzellungentransplantationen am Menschen. Aufgrund des in der rechten Schweinelunge zusätzlich vorhandenen Lobus trachealis (Abb. 6) kommt nur die linke Lunge für eine Transplantation in Frage. Die linke Lunge ist der menschlichen in Form und Aufbau sehr ähnlich.

Um während der Versuche Ergebnisse über die transplantierte als auch die native Lunge zu erlangen, wurde in unserer Arbeit das Modell der isolierten Ventilation und Perfusion benutzt (Abb. 14). Da das Messverfahren in allen Beobachtungsgruppen gleichermaßen angewandt wurde, ist nicht von einer Beeinflussung der Ergebnisse im Gruppenvergleich auszugehen. Zur Messung der Transplantatfunktion in isolierter Perfusion wurde von anderen Arbeitsgruppen die rechte A. pulmonalis entweder permanent (64) oder intermittierend ligiert. Bei diesem Vorgehen kann jedoch über die Aa. bronchiales eine Restperfusion der rechten Lunge persistieren und damit der pulmonale Gasaustausch der Transplantatlunge überschätzt werden. Im Gegensatz dazu wurde in der vorliegenden Arbeit die Durchblutung ebenso wie die Ventilation intermittierend unterbrochen.

Der in unserem Modell verwendete 6-stündige Beobachtungszeitraum nach Transplantation, wurde in Anlehnung an zahlreiche tierexperimentelle Studien gewählt. Diese zeigen, dass morphologische Veränderungen sowie Transplantatdysfunktionen innerhalb von

wenigen Stunden nach Transplantatreperfusion auftreten (69;77;78). Gerade Schädigungen in der Frühphase nach Transplantation erweisen sich als prognostisch wichtig für die weitere Morbidität der Empfänger. Beispielweise konnte Steen et al. (79) anhand ihres Transplantationsmodells beobachten, dass etwa 2 – 4 Stunden nach Reperfusion der Transplantatlungen ein „steady-state“ in der Transplantatfunktion eintrat, der sich auch während einer Beobachtungsphase bis 24 Stunden nicht mehr änderte.

Demzufolge beschränkten wir unseren Beobachtungszeitraum auf die akute Phase nach Organreperfusion der Transplantatlungen. Dies erlaubt ferner eine umfassende Beurteilung der frühen hämodynamischen Veränderungen nach experimenteller Lungentransplantation.

5.2 Vorschädigung der Spenderlunge durch hämorrhagischen Schock und Resuscitation

Durch die aktuell angewandten strengen Spenderkriterien können nur ca. ein Viertel der vorhandenen Lungen transplantiert werden. Ein Ansatz zur Erweiterung des Spenderpools ist die Einbeziehung marginaler Spender. Ein entscheidender Teil dieser potentiellen Organspender sind Traumapatienten mit stattgehabtem Blutverlust und konsekutiver Hypotension. Um die Auswirkungen einer Vorschädigung von Spenderlungen durch einen Ischämie-Reperfusionsschaden auf die spätere Funktion nach Implantation erfassen zu können, entschieden wir uns in der vorliegenden Untersuchung für ein Schockmodell durch Hämorrhagie.

Es handelt sich dabei um ein etabliertes Modell, welches in mehreren Studien zur Anwendung kam (67;68).

Prinzipiell unterscheidet man vier Blutungs-Schockmodelle (80):

1. Das „fixed-volume“ Modell mit Entnahme eines festgelegten Blutvolumens und variablem Blutdruck.
2. Das „fixed-pressure“ Modell mit Entnahme eines Blutvolumens bis zum Erreichen eines bestimmten Blutdrucks.
3. Das „uncontrolled hemorrhage“ Modell als unkontrollierte, kontinuierliche Blutung.
4. Das „fixed-cardiac Index“ Modell mit einem Blutentzug bis zu einem festgelegten Herz-Index.

Die am praktikabelsten durchzuführenden hämorrhagischen Schockmodelle sind die volumen- (68) und blutdruckkontrollierten Modelle (81). Unsere Arbeitsgruppe entschied sich aufgrund der besseren Handhabung für ein adaptiertes volumenkontrolliertes Modell, welches sich zusätzlich nach hämodynamischen Funktionsparametern wie dem MAP richtet. Es zeigte sich, dass die untersuchten Schweine bis zum Erreichen des 40%igen Blutentzugs z.T. sehr unterschiedlich reagierten. Insgesamt ergaben sich jedoch keine signifikanten Gruppenunterschiede hinsichtlich des entzogenen Blutvolumens sowie der Volumen Resuscitation.

Bei allen Tieren kam es zu einem hämodynamisch relevanten Schock mit einer entsprechenden vasomotorischen Anpassung. Als Zeichen einer inflammatorischen Reaktion konnte während der Schockphase eine Leukozytose beobachtet werden. Interessanter Weise zeigten vor Explantation die arteriellen Blutgase und der pulmonal arterielle Druck keine signifikanten Gruppenunterschiede. Die Schockgruppe entsprach mit einem PaO_2 von 439 mmHg vor Explantation nicht den Kriterien „marginaler Spender“, welche unter anderem mit einem $\text{PaO}_2 < 300$ mmHg definiert sind. Diese Beobachtung wird von einer experimentellen Studie unterstützt, in der sich eine normale Lungenfunktion nach hämorrhagischem Schock an Hunden zeigte (82).

Trotz der adäquaten Funktion der Spenderlungen nach HSR, kam es durch eine konsekutive Mikrozirkulationsstörung und Ausbildung einer low-flow Ischämie zu einer proinflammatorischen Aktivierung von Leukozyten. Dies kann zu irreversiblen v.a. endothelialen Schäden an Spender-Lungen nach hämorrhagischem Schock führen (83). Hinweise auf eine Schädigung der Lungen zeigten sich sowohl in der BALF als auch in den durchgeführten Gewebeuntersuchungen. In der BALF der HSR-Gruppe waren im Vergleich zur Kontrollgruppe die Marker der Lipidperoxidation erhöht. Im Lungengewebe kam es in der HSR-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer signifikanten Erhöhung der Myeloperoxidaseaktivität als Zeichen der Leukozytenrekrutierung. Der Feucht-/Trockenquotient als Parameter einer Ödembildung war ebenfalls in der HSR-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht und gibt einen weiteren Hinweis auf eine Verschlechterung der Spenderlunge. Trotzdem erfüllte die vorgeschädigte Lunge mit einem guten Gasaustausch die Kriterien eines „normalen“ Spenders.

Diese Ergebnisse wurden von einer Arbeitsgruppe um Tremblay et al. bestätigt, die in einem isolierten Reperusionsmodell an NHBD-Lungen von Ratten die Auswirkungen eines hypotensiven Schocks vor Explantation untersuchten (84). Es fand sich hierbei eine deutliche Verschlechterung der Lungenviabilität.

Insgesamt konnte nach Vorschädigung der Spenderlungen durch einen hämorrhagischen Schock mit anschließender Resuscitation lediglich die verlängerte Ischämiezeit von 18 Stunden als Kriterium für „marginaler Spender“ gewertet werden. Dennoch kam es zu einer deutlichen Schädigung der Lungen. Entsprechend ist zu überlegen, ob nicht eine genauere Differenzierung der „erweiterten Spenderkriterien“ angebracht ist. Gerade die Folgen des hämorrhagischen Schocks, der bei vielen Trauma-Toten eine Rolle spielt, erscheinen durch das aktuelle Bewertungssystem nicht adäquat erfasst.

5.3 Transplantatfunktionen

5.3.1 Effekte auf Hämodynamik und Transplantatfunktion

Unsere Arbeitsgruppe fand eine signifikante Verbesserung des arteriellen Sauerstoffpartialdrucks in der HSR/L-Arg-Gruppe im Vergleich zur HSR-Gruppe. Der arterielle Sauerstoffpartialdruck gilt als einer der klinisch bedeutendsten Parameter zur Abschätzung einer adäquaten Oxygenierung sowie der alveolo-kapillären Integrität. Entsprechend den verbesserten Ventilationsverhältnissen zeigte sich auch die Shuntfraktion, als Hinweis auf eine Verbesserung der Mikrozirkulation, in der HSR/L-Arg Gruppe vergleichbar mit Werten in der Kontrollgruppe und somit gegenüber der HSR-Gruppe signifikant reduziert. Die CO₂-Retention der Kontroll- und Therapiegruppe war gegenüber der HSR-Gruppe reduziert. Keine signifikant veränderten Messwerte zwischen den Versuchsgruppen zeigten den systemvaskulären Widerstand, den Blutdruck sowie die Herzfrequenz. Analog zu den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen (69;85) kam es zu einer Erhöhung des PVR in der HSR-Gruppe, welche durch L-Arginin Gabe vermieden werden konnte.

Insgesamt zeigten sich bei der Untersuchung von Hämodynamik und Transplantatfunktion nach L-Argininingabe positive Effekte. Es kam zu einer deutlichen Verbesserung des Gasaustausches sowie zu einer Reduzierung der Schranken- bzw. Mikrozirkulationsstörung.

In der Literatur wird der Effekt von NO jedoch kontrovers diskutiert. Zwissler et al. beschrieben einen tendenziell positiven Effekt nach Gabe von inhalierten NO in einem Kaninchenmodell nach hypoxischer Vasokonstriktion (86). Shiraishi et al. fanden einen

positiven Effekt auf die Lungenfunktion nach Substitution von L-Arginin in einem Ischämie/Reperfusionmodell an Schweinen (46). Dagegen konnten Vainikka et al. in einem Einzellungen-Transplantationsmodell an Schweinen keinen positiven Effekt nach i.v. Gabe von L-Arginin finden. Es kam lediglich zu einer Reduzierung des PVR in der Nativlunge, nicht aber in der Transplantatlunge (87). Ursächlich hierfür könnte die Beschränkung der Applikationsdauer auf lediglich 30 Minuten nach Reperfusion sein. Auch Botha et al. konnten in einer in einer klinischen Studie keinen positiven Effekt bei inhalativer NO-Gabe im Rahmen von Lungentransplantationen aufweisen (55). Dieses Ergebnis könnte durch die unterschiedliche Applikationsart begründet sein. Nach Auffassung unserer Arbeitsgruppe ist die intravenöse L-Argininingabe der inhalativen Gabe von NO überlegen, da sich die Wirkung direkt am pulmonalen Endothel entfalten kann und sich dort die primäre Angriffsfläche der bei Ischämie und Reperfusion gebildeten Radikale befindet (48).

5.3.2 Effekte auf das mikrovaskuläre Endothel der Lunge

Das pulmonale mikrovaskuläre Endothel stand deshalb im Mittelpunkt unseres Interesses. Die Aufrechterhaltung der endothelialen Integrität ist ein entscheidender Faktor für die Transplantatfunktion. Seine Bedeutung als Ausgangspunkt von reaktiven Sauerstoffspezies und Cytokinen nach Ischämie und Reperfusion wurde bereits von mehreren Arbeitsgruppen beschrieben (50;88-91). Entsprechend nimmt die Protektion der Endothelzellen einen hohen Stellenwert für die Lungenfunktion nach Transplantation ein.

In der histologischen Untersuchung der Transplantatlunge zeigte sich in der HSR/L-Arg-Gruppe im Vergleich zur HSR-Gruppe eine Reduktion des Gesamtschadens. Hierbei konnte vor allem eine verstärkte Leukozytenakkumulation und intraalveoläre Infiltration vermieden werden. Auch kam es in der Therapiegruppe im Vergleich zur HSR-Gruppe zu einer Reduktion des intraalveolären Ödems mit entsprechend vermindertem Flüssigkeitsanteil am Gesamtgewicht der Transplantatlunge, sowie einer deutlich reduzierten Gesamtgewichtszunahme.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Applikation von L-Arginin nach 6 Stunden Reperfusion zu einer Reduktion der pulmonalen Leukozytenrekrutierung und einer Verminderung der alveolo-kapillären Schrankenstörung führt.

5.3.3 Effekte auf die Leukozytenrekrutierung

Mehrere Arbeitsgruppen konnten belegen, dass ein erhöhter Anteil an neutrophilen Granulozyten in der BALF nach Lungentransplantation ein eigenständiger Parameter für ein schlechtes „outcome“ darstellt (92;93). In unserer Studie zeigte sich in der HSR/L-Arg-Gruppe im Vergleich zur HSR-Gruppe sowohl in der Auswertung des Histologie-Scores, als auch in der zytologischen Untersuchung der BALF und der Messung der MPO-Aktivität eine Abnahme der rekrutierten Leukozyten in der Lunge. Einhergehend mit einer verbesserten Mikrozirkulation sowie eines signifikant verbesserten Gasaustauschs in der Therapiegruppe im Vergleich zur HSR-Gruppe, kann von einer Verminderung des durch Granulozyten induzierten Transplantatschaden durch L-Arginin ausgegangen werden.

Unsere Ergebnisse werden durch die Resultate anderer Studien unterstützt, die eine Verbesserung der Transplantatfunktion marginaler Lungen nach i.v. Gabe von Nitroglycerin in der frühen Reperfusionphase zeigen konnten (94;95). Gerade in der frühen Reperfusionphase kommt es innerhalb weniger Minuten, durch Reaktion von NO mit Sauerstoffradikalen, zu einer Minimierung der endogenen NO-Konzentration (59). Durch Substitution von NO oder seines Substrates L-Arginin kann so der relative NO-Mangel ausgeglichen werden. Andererseits können vor allem in der späten Reperfusionphase NO und Superoxidradikale zu Peroxynitrit und weiter zu Hydroxyl-Anionen reagieren (56;62). Beide Moleküle fungieren als Oxidantien und tragen zu einer verstärkten Lipidperoxidation bei. Dies war der Grund weshalb in unserer Arbeit die L-Arginin-Substitution auf einen Zeitraum von 120 Minuten begrenzt wurde. So konnte eine überschießende NO Produktion durch die zu diesem Zeitpunkt noch nicht maximal exprimierte iNOS vermieden werden.

5.3.4 Effekte auf die Radikalentstehung

Es gibt unterschiedliche Untersuchungsergebnisse über den Einfluss von NO bzw. seines Substrates L-Arginin auf die Radikalentstehung nach Ischämie und Reperfusion in der Literatur. Die Bedeutung der Radikale für das Ausmaß des Organschadens wurde in mehreren Arbeitsgruppen nachgewiesen (31;61). Das Maximum der Sauerstoffradikalentstehung wird wenige Minuten nach Reperfusion erreicht (61;64). Dies war der Grund warum wir L-Arginin bereits kurz vor Reperfusion verabreichten.

In der vorliegenden Studie konnte eine protektive Wirkung von L-Arginin in Bezug auf

Radikalentstehung und Lipidperoxidation nachgewiesen werden. Es zeigte sich in der BALF der Therapiegruppe im Vergleich zur HSR-Gruppe eine signifikante Reduktion TBARS als Marker für Lipidperoxidation.

Um zu erfassen in wie weit die Leukozyten im Rahmen des HSR sowie der Transplantation durch oxidativen Stress und Inflammation aktiviert wurden, bzw. ob die Substitution von L-Arginin eine Aktivierung beeinflussen kann, wurde eine Analyse des oxidativen Bursts in der BALF nach 6 Stunden Reperfusion durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass die spontane Radikalproduktion der HSR/L-Arginin-Gruppe und der Kontrollgruppe ähnlich waren, wohingegen sich die Radikalproduktion in der HSR-Gruppe deutlich erhöht zeigte. Auch die Aktivierbarkeit der leukozytären Radikalproduktion war in der HSR-Gruppe gesteigert. Nach Gabe von L-Arginin konnte diese deutlich reduziert werden.

5.3.5 Effekte auf die Nativlunge

Die Effekte proinflammatorischer Mediatoren, die im Rahmen von Ischämie und Reperfusion ausgeschüttet werden, bleiben nicht nur auf das transplantierte Organ begrenzt. Die Schädigung der nicht primär von Ischämie und Reperfusion betroffenen Organe wird als „distant organ injury“ bezeichnet (66). Souza et al. konnten experimentell belegen, dass durch Ischämie und Reperfusion des Dünndarms die Freisetzung von Sauerstoffradikalen sowie die Produktion von TNF-alpha durch Alveolarmakrophagen gesteigert wird (96). Andere Arbeitsgruppen kamen zu dem Ergebnis, dass nach warmer Ischämie und Reperfusion eines Lungenflügels, sich der pulmonale Gasaustausch der kontralateralen nicht transplantierten Lunge signifikant im Vergleich zu einer Kontrollgruppe verschlechtert (97).

Unsere Arbeitsgruppe konnte ebenfalls eine „distant organ injury“ nach Ischämie und Reperfusion feststellen. Es zeigte sich in der Schockgruppe unserer Versuchsreihe eine tendenzielle Verschlechterung der Nativlungenfunktion. Es kam zu einer Erhöhung des Shuntvolumens, sowie zu einer Verschlechterung des Gasaustausches mit niedrigerem arteriellen Sauerstoffpartialdruck und erhöhter Kohlendioxidretention. Zudem zeigten sich deutlich erhöhte Beatmungsdrücke sowie eine erniedrigte Compliance in den NL-Lungen der Schockgruppe. Das Ausmaß dieses „distant organ injury“ an der Nativlunge konnte jedoch durch Substitution von L-Arginin reduziert werden. Auch die Leukozytenrekrutierung mit konsekutiver Lipidperoxidation an der Nativlunge konnte durch L-Argininingabe deutlich vermindert werden.

5.4 Zusammenfassung

Die Lungentransplantation stellt nach wie vor die Therapie der Wahl für terminale Lungenerkrankungen dar. Zwar steigt die Zahl der Lungentransplantationen kontinuierlich an, doch ebenso die Zahl der Neuanmeldungen. So besteht immer noch eine deutliche Diskrepanz zwischen Angebot und Nachfrage. Eine Möglichkeit zur Erweiterung des Spenderpools ist die Einbeziehung marginaler Spender, da durch die harten Spenderkriterien nur ca. ein Viertel der vorhandenen Lungen transplantiert werden können. In Ansätzen wird dies zwar bereits praktiziert, doch sind die Transplantationszentren aufgrund des möglichen Transplantatversagens sehr zurückhaltend. Da ein großer Teil der potentiellen Organspender Verkehrstote mit marginalen Organen sind, wäre deren Einbeziehung ein großer Fortschritt für die Transplantationschirurgie.

Eine exaktere Differenzierung des aktuellen Bewertungssystems der „erweiterten Spenderkriterien“ ist wünschenswert. Vorschädigungen der Spenderorgane durch einen Ischämie-Reperfusionsschaden werden bisher nicht ausreichend erfasst, und vermeidlich adäquate Spenderlungen überraschen daher durch ein schlechtes outcome.

Ein weiteres ungelöstes Problem ist das primäre Transplantatversagen. Mit einer Inzidenz von 30 % und einer Mortalität bis zu 40 % stellt es eine sehr ernst zu nehmende Komplikation dar. Vor allem das outcome nach Transplantation vorgeschädigter Lungen könnte hiervon negativ beeinflusst werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss der Aminosäure L-Arginin auf die Funktion vorgeschädigter Spenderlungen zu untersuchen. Dies wurde am Modell einer Einzellungentransplantation am Hausschwein durchgeführt. Es wurden 3 Gruppen (n = 6) gebildet. Neben einer Kontrollgruppe gab es eine Schock- sowie eine Therapiegruppe. Bei den Spendertieren der zwei letzteren Gruppen wurde ein schwerer hämorrhagischer Schock mit anschließender Resuscitation durchgeführt. Nach Beendigung des insgesamt 5-stündigen Messzeitraumes wurden die Lungen flushkonserviert und 18 Stunden hypotherm gelagert. Die Empfängertiere der Therapiegruppe erhielten kurz vor Reperfusion einen i.v. Bolus der Aminosäure sowie eine 2-stündige Applikation via Perfusor. Nach Transplantation wurden über 6 Stunden Parameter des Gasaustausches sowie der Hämodynamik zur Beurteilung der Transplantatfunktion gemessen. Des Weiteren erfolgten nach Beendigung des Messzeitraumes eine bronchoalveoläre Lavage, sowie die Gewinnung von Gewebe für histologische

Untersuchungen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass durch die Substitution der Aminosäure L-Arginin in der frühen Reperfusionphase eine Transplantatverschlechterung trotz Vorschädigung der Spenderlunge verhindert werden konnte. Es zeigte sich im Vergleich zur Schockgruppe eine deutliche und zum Teil signifikante Verbesserung der Transplantatfunktion. Es kam unter anderem zu einer Verbesserung der endothelialen Integrität mit Reduzierung der Schrankenstörung und Verminderung einer intraalveolären Ödembildung. So zeigte sich eine konsekutive Verbesserung der Mikrozirkulation mit Abnahme der pulmonalen Shuntfraktion und gebessertem Gasaustausch. Die durch Vorschädigung entstandene erhöhte Anzahl an reaktiven Sauerstoffspezies konnte durch L-Arginin reduziert werden. Konsekutiv kam es in der Therapiegruppe zu vermindertem oxidativen Stress mit erniedrigter Lipidperoxidation. Eine vermehrte Leukozytenakkumulation im Transplantat wurde verhindert.

Auch der als „distant organ injury“ bezeichnete Kollateralschaden der Nativlunge konnte durch L-Arginin positiv beeinflusst werden. Es ergab sich eine verbesserte Nativlungenfunktion, sowie eine Reduzierung der Leukozytenrekrutierung ins Lungengewebe.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Therapie mit L-Arginin nicht nur positive Effekte auf das primäre Transplantatversagen bei optimalen Spender / Empfänger Konstellationen hätte, sondern auch Zugang zu einem bis dato ungenutzten Spenderpool bedeuten könnte. Gerade bei Verkehrstoten, die oftmals in Folge von Traumata versterben, wäre ein Einsatz von L-Arginin in der frühen Reperfusionphase beim Empfänger zur Verbesserung der Transplantatfunktion denkbar.

Weitere Untersuchungen der Effekte auf den Empfänger mit längeren Beobachtungszeiträumen und postoperativen Langzeitverläufen werden erforderlich sein, um die in unserer Arbeit gezeigten positiven Ergebnisse weiter verifizieren zu können.

6 Literaturverzeichnis

- (1) Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, Boucek MM, Keck BM, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-third official adult lung and heart-lung transplantation report--2006. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25(8):880-892.
- (2) De Perrot M, Liu M, Waddell TK, Keshavjee S. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167(4):490-511.
- (3) Weill D. Donor criteria in lung transplantation: an issue revisited. *Chest* 2002; 121(6):2029-2031.
- (4) Hardy JD. The first lung transplant in man (1963) and the first heart transplant in man (1964). *Transplant Proc* 1999; 31(1-2):25-29.
- (5) Meyers BF, Patterson GA. Lung transplantation: current status and future prospects. *World J Surg* 1999; 23(11):1156-1162.
- (6) Carrel A. Landmark article, Nov 14, 1908: Results of the transplantation of blood vessels, organs and limbs. By Alexis Carrel. *JAMA* 1983; 250(7):944-953.
- (7) Haverich A. [Lung transplantation]. *Pneumologie* 1990; 44 Suppl 1:412-417.
- (8) Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. Toronto Lung Transplant Group. *N Engl J Med* 1986; 314(18):1140-1145.
- (9) International guidelines for the selection of lung transplant candidates. The American Society for Transplant Physicians (ASTP)/American Thoracic Society(ATS)/European Respiratory Society(ERS)/International Society for Heart and Lung Transplantation(ISHLT). *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(1):335-339.
- (10) Davis RD, Jr., Pasque MK. Pulmonary transplantation. *Ann Surg* 1995; 221(1):14-28.
- (11) Arcasoy SM, Kotloff RM. Lung transplantation. *N Engl J Med* 1999; 340(14):1081-1091.
- (12) Gunes A, Aboyoun CL, Morton JM, Plit M, Malouf MA, Glanville AR. Lung transplantation for chronic obstructive pulmonary disease at St Vincent's Hospital. *Intern Med J* 2006; 36(1):5-11.

- (13) Hashimoto N, Takeyoshi I, Yoshinari D et al. Effects of a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor as an additive to Euro-Collins solution on reperfusion injury in canine lung transplantation. *Transplantation* 2002; 74(3):320-326.
- (14) Orens JB, Estenne M, Arcasoy S et al. International guidelines for the selection of lung transplant candidates: 2006 update--a consensus report from the Pulmonary Scientific Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25(7):745-755.
- (15) Bhorade SM, Vigneswaran W, McCabe MA, Garrity ER. Liberalization of donor criteria may expand the donor pool without adverse consequence in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2000; 19(12):1199-1204.
- (16) Fiser SM, Tribble CG, Long SM et al. Lung transplant reperfusion injury involves pulmonary macrophages and circulating leukocytes in a biphasic response. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121(6):1069-1075.
- (17) De MJ, Smits JM, Persijn GG, Haverich A. Lung transplant waiting list: differential outcome of type of end-stage lung disease, one year after registration. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18(6):563-571.
- (18) Loehe F, Mueller C, Annecke T et al. Tissue damage of non-heart-beating donor lungs after long-term preservation: evaluation of histologic alteration, bronchoalveolar lavage, and energy metabolism. *Shock* 2002; 17(6):502-507.
- (19) Simpson DG, Bowlin GL. Tissue-engineering scaffolds: can we re-engineer mother nature? *Expert Rev Med Devices* 2006; 3(1):9-15.
- (20) Groth CG. Progress in xenotransplantation: a personal view. *Xenotransplantation* 2006; 13(3):179-181.
- (21) Mallory GB, Jr., Cohen AH. Donor considerations in living-related donor lung transplantation. *Clin Chest Med* 1997; 18(2):239-244.
- (22) Battafarano RJ, Anderson RC, Meyers BF et al. Perioperative complications after living donor lobectomy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120(5):909-915.
- (23) Wittwer T, Franke UF, Fehrenbach A et al. Experimental lung transplantation: impact of preservation solution and route of delivery. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24(8):1081-1090.
- (24) Botha P, Trivedi D, Weir CJ et al. Extended donor criteria in lung transplantation: impact on organ allocation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 131(5):1154-1160.

- (25) Kawut SM, Reventovich A, Wilt JS et al. Outcomes of extended donor lung recipients after lung transplantation. *Transplantation* 2005; 79(3):310-316.
- (26) Filosso PL, Turello D, Cavallo A, Ruffini E, Mancuso M, Oliaro A. Lung donors selection criteria: a review. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2006; 47(3):361-366.
- (27) König HE, Liebich HG. *Anatomie der Haussäugetiere*. 2, 100-101. 1999. Schattauer. Ref Type: Generic
- (28) Bittner HB, Binner C, Dahlberg P, Mohr FW. Reducing ischemia-reperfusion injury in clinical lung transplantation. *Transplant Proc* 2007; 39(2):489-492.
- (29) King RC, Binns OA, Rodriguez F et al. Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation. *Ann Thorac Surg* 2000; 69(6):1681-1685.
- (30) Bernard GR, Artigas A, Brigham KL et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149(3 Pt 1):818-824.
- (31) Novick RJ, Gehman KE, Ali IS, Lee J. Lung preservation: the importance of endothelial and alveolar type II cell integrity. *Ann Thorac Surg* 1996; 62(1):302-314.
- (32) Arcasoy SM, Fisher A, Hachem RR, Scavuzzo M, Ware LB. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part V: predictors and outcomes. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24(10):1483-1488.
- (33) Cooper JD, Vreim CE. NHLBI workshop summary. Biology of lung preservation for transplantation. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146(3):803-807.
- (34) Prop J, Ehrie MG, Crapo JD, Nieuwenhuis P, Wildevuur CR. Reimplantation response in isografted rat lungs. Analysis of causal factors. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984; 87(5):702-711.
- (35) Siegleman SS, Sinha SB, Veith FJ. Pulmonary reimplantation response. *Ann Surg* 1973; 177(1):30-36.
- (36) Khan SU, Salloum J, O'Donovan PB et al. Acute pulmonary edema after lung transplantation: the pulmonary reimplantation response. *Chest* 1999; 116(1):187-194.
- (37) Allgower M, Burri C. ["Shock index"]. *Dtsch Med Wochenschr* 1967; 92(43):1947-1950.

- (38) Kreimeier U, Peter K, Messmer K. [Small volume--large benefits?]. *Anaesthesist* 2001; 50(6):442-449.
- (39) Ramos-Kelly JR, Toledo-Pereyra LH, Jordan JA, Rivera-Chavez FA, Dixon RA, Ward PA. Upregulation of lung chemokines associated with hemorrhage is reversed with a small molecule multiple selectin inhibitor. *J Am Coll Surg* 1999; 189(6):546-553.
- (40) Plante GE, Chakir M, Lehoux S, Lortie M. Disorders of body fluid balance: a new look into the mechanisms of disease. *Can J Cardiol* 1995; 11(9):788-802.
- (41) Weder W, Harper B, Shimokawa S et al. Influence of intraalveolar oxygen concentration on lung preservation in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 101(6):1037-1043.
- (42) Eppihimer MJ, Granger DN. Ischemia/reperfusion-induced leukocyte-endothelial interactions in postcapillary venules. *Shock* 1997; 8(1):16-25.
- (43) Date H, Matsumura A, Manchester JK, Cooper JM, Lowry OH, Cooper JD. Changes in alveolar oxygen and carbon dioxide concentration and oxygen consumption during lung preservation. The maintenance of aerobic metabolism during lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105(3):492-501.
- (44) Loehe F, Mueller C, Annecke T et al. Pulmonary graft function after long-term preservation of non-heart-beating donor lungs. *Ann Thorac Surg* 2000; 69(5):1556-1562.
- (45) Liu M, Tremblay L, Cassivi SD et al. Alterations of nitric oxide synthase expression and activity during rat lung transplantation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 278(5):L1071-L1081.
- (46) Shiraishi Y, Lee JR, Laks H et al. L-arginine administration during reperfusion improves pulmonary function. *Ann Thorac Surg* 1996; 62(6):1580-1586.
- (47) Fullerton DA, Mitchell MB, McIntyre RC, Jr. et al. Cold ischemia and reperfusion each produce pulmonary vasomotor dysfunction in the transplanted lung. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106(6):1213-1217.
- (48) Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329(27):2002-2012.
- (49) Post S, Messmer K. [The role of reperfusion damage]. *Chirurg* 1996; 67(4):318-323.

- (50) Eppinger MJ, Jones ML, Deeb GM, Bolling SF, Ward PA. Pattern of injury and the role of neutrophils in reperfusion injury of rat lung. *J Surg Res* 1995; 58(6):713-718.
- (51) Land W. The potential impact of the reperfusion injury on acute and chronic rejection events following organ transplantation. *Transplant Proc* 1994; 26(6):3169-3171.
- (52) Wilkes DS, Egan TM, Reynolds HY. Lung transplantation: opportunities for research and clinical advancement. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172(8):944-955.
- (53) Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 1994; 343(8907):1199-1206.
- (54) Kemming GI, Merkel MJ, Schallerer A et al. Inhaled nitric oxide (NO) for the treatment of early allograft failure after lung transplantation. Munich Lung Transplant Group. *Intensive Care Med* 1998; 24(11):1173-1180.
- (55) Botha P, Jeyakanthan M, Rao JN et al. Inhaled nitric oxide for modulation of ischemia-reperfusion injury in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26(11):1199-1205.
- (56) Bonfoco E, Krainc D, Ankarcrona M, Nicotera P, Lipton SA. Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(16):7162-7166.
- (57) Preiser JC, Zhang H, Vray B, Hrabak A, Vincent JL. Time course of inducible nitric oxide synthase activity following endotoxin administration in dogs. *Nitric Oxide* 2001; 5(2):208-211.
- (58) Morris SM, Jr., Billiar TR. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am J Physiol* 1994; 266(6 Pt 1):E829-E839.
- (59) Pinsky DJ, Naka Y, Chowdhury NC et al. The nitric oxide/cyclic GMP pathway in organ transplantation: critical role in successful lung preservation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(25):12086-12090.
- (60) Loehe F, Preissler G, Annecke T, Bittmann I, Jauch KW, Messmer K. Continuous infusion of nitroglycerin improves pulmonary graft function of non-heart-beating donor lungs. *Transplantation* 2004; 77(12):1803-1808.

- (61) Land W, Messmer K. The impact of ischemia/reperfusion injury on specific and non-specific, early and late chronic events after organ transplantation. 108-127. 1996. Transplantation Reviews.
Ref Type: Generic
- (62) Eppinger MJ, Ward PA, Jones ML, Bolling SF, Deeb GM. Disparate effects of nitric oxide on lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1995; 60(5):1169-1175.
- (63) Loehe F, Bruns CJ, Nitsch SM, Angele MK. The role of L-arginine following trauma and blood loss. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10(1):80-87.
- (64) Lehtola A, Harjula A, Heikkila L et al. Single lung allotransplantation in pigs. A morphologic study of tissue preservation with modified Euro-Collins and fluorocarbon solutions. *Transplantation* 1990; 49(6):1066-1074.
- (65) Nickel, Schummer, Seifele. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band II.* 1987. Berlin/Hamburg: Verlag Paul Parey.
Ref Type: Generic
- (66) Seekamp A, Ward PA. Ischemia-reperfusion injury. *Agents Actions Suppl* 1993; 41:137-152.
- (67) Angele MK, Smail N, Ayala A, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry IH. L-arginine: a unique amino acid for restoring the depressed macrophage functions after trauma-hemorrhage. *J Trauma* 1999; 46(1):34-41.
- (68) Rady MY, Little RA, Kirkman E, Faithfull NS. Resuscitation fluids and oxygen transport in haemorrhagic shock. *Adv Exp Med Biol* 1992; 316:409-418.
- (69) Muller C, Hoffmann H, Bittmann I et al. Hypothermic storage alone in lung preservation for transplantation: a metabolic, light microscopic, and functional analysis after 18 hours of preservation. *Transplantation* 1997; 63(5):625-630.
- (70) Kuebler WM, Abels C, Schuerer L, Goetz AE. Measurement of neutrophil content in brain and lung tissue by a modified myeloperoxidase assay. *Int J Microcirc Clin Exp* 1996; 16(2):89-97.
- (71) Demling RH, Niehaus G, Will JA. Pulmonary microvascular response to hemorrhagic shock, resuscitation, and recovery. *J Appl Physiol* 1979; 46(3):498-503.

- (72) Sakamaki F, Hoffmann H, Munzing S, Krombach F, Messmer K, Schildberg FW. Effects of lung preservation solutions on PMN activation in vitro. *Transpl Int* 1999; 12(2):113-121.
- (73) Hesse AK, Dorger M, Kupatt C, Krombach F. Proinflammatory role of inducible nitric oxide synthase in acute hyperoxic lung injury. *Respir Res* 2004; 5:11.
- (74) Southard JH, den Butter B, Marsh DC, Lindell S, Belzer FO. The role of oxygen free radicals in organ preservation. *Klin Wochenschr* 1991; 69(21-23):1073-1076.
- (75) Cremona G, Wood AM, Hall LW, Bower EA, Higenbottam T. Effect of inhibitors of nitric oxide release and action on vascular tone in isolated lungs of pig, sheep, dog and man. *J Physiol* 1994; 481 (Pt 1):185-195.
- (76) Lu YT, Hellewell PG, Evans TW. Ischemia-reperfusion lung injury: contribution of ischemia, neutrophils, and hydrostatic pressure. *Am J Physiol* 1997; 273(1 Pt 1):L46-L54.
- (77) Bryan CL, Patefield AJ, Cohen D, Nielsen JL, Emanuel B, Calhoun JH. Assessment of injury in transplanted and nontransplanted lungs after 6 h of cold storage with glutathione. *J Appl Physiol* 1994; 76(3):1232-1241.
- (78) Kishima H, Takeda S, Miyoshi S et al. Microvascular permeability of the non-heart-beating rabbit lung after warm ischemia and reperfusion: role of neutrophil elastase. *Ann Thorac Surg* 1998; 65(4):913-918.
- (79) Steen S, Sjoberg T, Ingemansson R, Lindberg L. Efficacy of topical cooling in lung preservation: is a reappraisal due? *Ann Thorac Surg* 1994; 58(6):1657-1663.
- (80) Deitch EA. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 1998; 9(1):1-11.
- (81) Chiara O, Pelosi P, Brazzi L et al. Resuscitation from hemorrhagic shock: experimental model comparing normal saline, dextran, and hypertonic saline solutions. *Crit Care Med* 2003; 31(7):1915-1922.
- (82) Silberschmid M, Szczepanski KP, Lund C. Hemorrhagic shock in dogs without major pulmonary changes. *Eur Surg Res* 1975; 7(1):10-22.
- (83) Peitzman AB, Billiar TR, Harbrecht BG, Kelly E, Udekwu AO, Simmons RL. Hemorrhagic shock. *Curr Probl Surg* 1995; 32(11):925-1002.

- (84) Tremblay LN, Yamashiro T, DeCampos KN et al. Effect of hypotension preceding death on the function of lungs from donors with nonbeating hearts. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15(3):260-268.
- (85) Steen S, Sjoberg T, Massa G, Ericsson L, Lindberg L. Safe pulmonary preservation for 12 hours with low-potassium-dextran solution. *Ann Thorac Surg* 1993; 55(2):434-440.
- (86) Zwissler B, Welte M, Habler O, Kleen M, Messmer K. Effects of inhaled prostacyclin as compared with inhaled nitric oxide in a canine model of pulmonary microembolism and oleic acid edema. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1995; 9(6):634-640.
- (87) Vainikka T, Heikkila L, Kukkonen S, Toivonen HJ. L-Arginine in lung graft preservation and reperfusion. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20(5):559-567.
- (88) Christofidou-Solomidou M, Muzykantov VR. Antioxidant strategies in respiratory medicine. *Treat Respir Med* 2006; 5(1):47-78.
- (89) Farivar AS, Krishnadasan B, Naidu BV, Woolley SM, Verrier ED, Mulligan MS. Endogenous interleukin-4 and interleukin-10 regulate experimental lung ischemia reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 2003; 76(1):253-259.
- (90) Wagner FM, Weber AT, Ploetze K et al. Do vitamins C and E attenuate the effects of reactive oxygen species during pulmonary reperfusion and thereby prevent injury? *Ann Thorac Surg* 2002; 74(3):811-817.
- (91) Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000; 342(18):1334-1349.
- (92) Henke JA, Golden JA, Yelin EH, Keith FA, Blanc PD. Persistent increases of BAL neutrophils as a predictor of mortality following lung transplant. *Chest* 1999; 115(2):403-409.
- (93) Cavanagh SP, Gough MJ, Homer-Vanniasinkam S. The role of the neutrophil in ischaemia-reperfusion injury: potential therapeutic interventions. *Cardiovasc Surg* 1998; 6(2):112-118.
- (94) Bhabra MS, Hopkinson DN, Shaw TE, Hooper TL. Attenuation of lung graft reperfusion injury by a nitric oxide donor. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997; 113(2):327-333.

-
- (95) Egan TM, Hoffmann SC, Sevala M, Sadoff JD, Schlidt SA. Nitroglycerin reperfusion reduces ischemia-reperfusion injury in non-heart-beating donor lungs. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25(1):110-119.
- (96) Souza AL, Jr., Poggetti RS, Fontes B, Birolini D. Gut ischemia/reperfusion activates lung macrophages for tumor necrosis factor and hydrogen peroxide production. *J Trauma* 2000; 49(2):232-236.
- (97) Watanabe A, Kawaharada N, Kusajima K, Komatsu S, Takahashi H. Contralateral lung injury associated with single-lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1996; 62(6):1644-1649.

7 Abkürzungen

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
AaDO ₂	Alveoloarterielle Sauerstoffpartialdruckdifferenz
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
AMV	Atemminutenvolumen
ATP	Adenosintriphosphat
AvDO ₂	arteriovenöse Sauerstoffgehaltsdifferenz
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BALF	Bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit
C _{dyn}	Dynamische Lungencompliance
CO	Herzminutenvolumen, Cardiac Output
DCF	Dichlorofluorezindiacetat
DSO	Deutsche Stiftung Organtransplantation
Hb	Hämoglobin
HE	Hämatoxilin-Eosin
HF	Herzfrequenz
HS 40/120	40 bzw. 120 Minuten hämorrhagischer Schock
HZV	Herzzeitvolumen
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1
IRS	Ischämie-Reperfusionsschaden
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MPO	Myeloperoxidase
MW	Mittelwert
NL	Nativlunge des Empfängers
PAF	Plättchen aktivierender Faktor
PaO ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PBS	Phosphate buffered saline
PEEP	Positiver endexpiratorischer Druck
PL	Pneumonektomie-Lunge
PMA	Phorbolmyristatacetat

P_{vent}	Atemwegsspitzendruck
PVR	Pulmonal-vaskulärer Widerstand
Q_s/Q_t	intrapulmonales Shuntvolumen
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
30/180 RES	30 bzw. 180 Minuten Resuscitation (Volumenzufuhr)
RPM	Rounds per minute
SEM	Standard error of the mean
SVR	Systemischer vaskulärer Widerstand
TBARS	Thiobarbitursäure reaktive Substanzen
Tx	Transplantation
Vv.	Venae
W/D-Ratio	Feucht-/Trockengewicht Quotient
ZVD	Zentralvenöser Druck
ZVK	Zentraler Venenkatheter

8 Danksagung

Dank gilt all den Personen, die mich während meiner Dissertation unterstützt haben.

Herrn PD Dr. med. F.Löhe danke ich für die Annahme der Arbeit, deren Durchsicht, sowie seine fachlichen Ratschläge. Auch habe ich ihn als Ansprechpartner während meiner Zeit in der Thoraxchirurgie stets in guter Erinnerung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. G.Preissler der mir jederzeit mit seinem hohen Engagement, seiner persönlichen Erfahrung und seinem fachlichen Wissen zur Seite stand. Seine Betreuung und Unterstützung ermöglichten mir erste wissenschaftliche Kenntnisse für meine weitere Berufslaufbahn zu sammeln und erweiterte mein Interesse an der Forschung. Auch für die kollegiale und freundliche Atmosphäre möchte ich ihm danken. Bei meiner Kodokterandin Ines Huff möchte ich mich für ihre Mitarbeit sowie bei der Durchführung der Experimente bedanken.

Herrn Prof. A.Baethmann als kommissarischen Leiter des Instituts für chirurgische Forschung danke ich für die Aufnahme in das Institut. Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. mult. K.Messmer für seine Unterstützung auch nach Abschluss dieser Arbeit. Herrn Prof. G.Enders möchte ich für seine Bereitschaft zur Diskussion so wie sein Interesse an der Arbeit danken.

Dank gilt auch PD Dr. med. I.Bittmann, die uns mit der Auswertung des Histologie Scores unterstützte. Ganz herzlich möchte ich mich bei dem gesamten Laborteam bedanken. Frau A.Allmeling, Frau Ch.Csapo, Frau G.Höbel, Frau S.Münzing, Frau A.Schropp und Herrn G.Adams möchte ich für die fachliche Unterstützung dieser Arbeit sowie die stets gute Arbeitsatmosphäre danken. Herrn D.Müller möchte ich für die Durchführung der Tiertransporte sowie seine darüber hinausgehendes tatkräftiges Engagement danken.

Danken möchte ich auch meinem Freund und Kollegen Dr. med. M.Makowski, der mich stets in wissenschaftlichen Belangen unterstützt hat.

Zuletzt gilt noch mein ausdrücklicher Dank meinen Eltern, die mich stets in jeglicher Hinsicht förderten und mir mein Studium ermöglichten. Ihnen sei diese Arbeit gewidmet.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Hans Ullrich Ebersberger
 Geburtsdatum: 13. Juli 1978
 Geburtsort: Frankfurt a.M.
 Nationalität: Deutsch
 Familienstand: Ledig

Ausbildung:

05/2006 Approbation als Arzt
 03/2005 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 09/2002 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 09/2001 Ärztliche Vorprüfung
 09/1999 Ludwig-Maximilians-Universität, München
 Beginn Studium der Humanmedizin

1998 – 1999 Zivildienst, Rettungsdienst DRK Rhein-Main-Taunus
 1995 – 1998 Gymnasium, Schwalbach a.Ts.
 1994 – 1995 Einjähriger USA Aufenthalt an der Niwot High School, Colorado;
 Graduation Class of 1995
 1989 – 1994 Gymnasium, Schwalbach a.Ts

Praktisches Jahr:

11/2005-03/2006 **Klinikum der LMU Großhadern, München**
 3. Terial: Chirurgische Klinik und Poliklinik
 Direktor: Prof. Dr. med Karl-Walter Jauch

08/2005-11/2005 **Klinikum der LMU Großhadern, München**
 2. Terial: Abteilung für Anästhesiologie
 Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. Klaus Peter

06/2005-08/2005 **Akademisches Lehrkrankenhaus Schwabing, München**
 1. Terial, 2. Hälfte: Innere Medizin in der
 Abteilung für Kardiologie
 Chefarzt: Prof. Dr. Wittich Doering

04/2005-06/2005 **Mount Sinai School of Medicine New York, USA**
 1. Terial, 1. Hälfte: Innere Medizin in der Abteilungen für
 Gastroenterologie
 Division Chief: Dr. Henry D. Janowitz

Klinische Tätigkeit:

07/2006 bis heute Assistenzarzt der Klinik für Kardiologie und internistische
 Intensivmedizin des Klinikum Bogenhausen, München.

Wissenschaftliche Tätigkeiten:Dissertation:

Wirkung von L-Arginin auf die Funktion vorgeschädigter Spenderlungen nach Transplantation;
Arbeitsgruppe PD Dr. Löhe / Dr. Preissler
Institut für Chirurgische Forschung, Klinikum Großhadern, München

Veröffentlichungen:

Preissler G, Huff I, Ebersberger U, Eichhorn M, Meßmer K, Jauch KW, Löhe F:
Hemorrhagic shock and resuscitation in traumatized organ donors: L-arginine improves pulmonary graft function. Chirurgisches Forum 2004; Band 33: 351-353

Preissler G, Ebersberger U, Huff I, Eichhorn M, Meßmer K, Jauch KW, Loehe F:
Hemorrhagic shock and resuscitation in organ donors increases ischemia reperfusion injury of lung grafts. Shock 2004; 21 Suppl 1: Abstracts 89

Preissler G, Ebersberger U, Huff I, Eichhorn M, Meßmer K, Jauch KW, Loehe F:
Hemorrhagic shock and resuscitation in organ donors: L-arginine improves impaired lung transplant function. ISHLT J Heart Lung Transplant 2004 Feb, 23, Suppl. 1: S171

Makowski MR, Ebersberger U, Nekolla S, Schwaiger M :
In vivo molecular imaging of angiogenesis, targeting alphavbeta3 integrin expression, in a patient after acute myocardial infarction. Eur Heart J. 2008 Sep;29:2201.

Preissler G, Löhe F, Ebersberger U, Huff I, Bittmann I, Meßmer K, Jauch KW, Angele MK:
Recipient treatment with L-arginine attenuates donor lung injury associated with hemorrhagic shock. Transplantation 2009 Sep; 29:2201.