

Laurenz Mehringer

Einfluss einer albuminhaltigen
Präservationslösung auf die koronare
endotheliale Glykokalyx und die
postischämische kardiale Pumpfunktion



München 2015

Aus dem
Institut für Kardiovaskuläre Physiologie und Pathophysiologie
im Walter–Brendel–Zentrum für Experimentelle Medizin,
Ludwig–Maximilians–Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Ulrich Pohl

Einfluss einer albuminhaltigen Präservationslösung
auf die koronare endotheliale Glykokalyx und die
postischämische kardiale Pumpfunktion

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

vorgelegt von
Laurenz Mathias Hagen Mehringer

aus
München

2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Bernhard F. Becker

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Markus Rehm
Prof. Dr. med. Christian Kupatt

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. med. Matthias Jacob

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser, FACR

Tag der mündlichen Prüfung: 16.04.2015

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Laurenz Mehringer, erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:

Einfluss einer albuminhaltigen Präservationslösung auf die koronare
endotheliale Glykokalyx und die postischämische kardiale Pumpfunktion

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

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

München, den 20.04.2015

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden teilweise bereits an anderer Stelle veröffentlicht:

- Jacob, M, Paul, O, Mehringer, L, Chappell, D, Rehm, M, Welsch, U, Kaczmarek, I, Conzen, P und Becker, BF:

Albumin augmentation improves condition of guinea pig hearts after 4 hr of cold ischemia.

Transplantation 2009; 87:956-965

It's up to us to save the world.

Peter Safar, MD

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Die Herztransplantation	1
1.1.1	Einführung	1
1.1.2	Primäres Transplantatversagen nach Herztransplantation	2
1.1.3	Aktueller Standard der Organprotektion bei Ischämie und Re-perfusion	4
1.2	Die endotheliale Glykokalyx	7
1.2.1	Einführung	7
1.2.2	Aufbau der endothelialen Glykokalyx	8
1.2.3	Die physiologische Funktion der endothelialen Glykokalyx	11
1.2.4	Pathophysiologische Bedeutung und Ziel neuer Therapien . . .	16
1.2.5	Schutz der endothelialen Glykokalyx im Rahmen der Herztrans-plantation	18
1.3	Fragestellung und experimenteller Ansatz	19
2	Material und Methoden	20
2.1	Substanzen, Gase und Lösungen	20
2.2	Versuchstiere	21
2.3	Das ex vivo perfundierte Säugetierherz	21
2.3.1	Organentnahme und Ischämieperiode	24
2.3.2	Die modifizierte Langendorff - Anordnung	25
2.3.3	Das ex vivo perfundierte, linksventrikulär arbeitende Herz . . .	29
2.3.4	Das ex vivo perfundierte, rechtsventrikulär arbeitende Herz . . .	30
2.4	Versuchsprotokoll	32
2.5	Versuchsgruppen	34

2.6	Ausschlusskriterien	35
2.7	Analytik	35
2.7.1	Lebend- und Herzgewicht, Ödembildung	35
2.7.2	Bestimmung des Herzzeitvolumens	36
2.7.3	Druck-Volumen-Arbeit	38
2.7.4	Maximale Druckentwicklung	38
2.7.5	Nachweis von Glykokalyxbestandteilen	38
2.7.6	Nachweis von Metaboliten	39
2.7.7	Statistische Auswertung	39
3	Ergebnisse	40
3.1	Lebendgewicht, Herzgewicht und Ödembildung	40
3.2	Koronarfluss	40
3.3	Kardiale Pumpleistung	42
3.4	Freisetzung von Glykokalyxbestandteilen	46
3.5	Freisetzung von Metaboliten	47
4	Diskussion	50
4.1	Methodenkritik	50
4.2	Bewertung der Ergebnisse	55
4.3	Klinische Einordnung der Ergebnisse und Ausblick	62
5	Zusammenfassung	64
6	Literaturverzeichnis	66
7	Danksagung	89

Abbildungsverzeichnis

1.1	Der Endothelial Surface Layer	9
2.1	Die modifizierte Langendorff-Anordnung	28
2.2	Versuchsanordnung linksventrikulär arbeitendes Herz	31
2.3	Versuchsanordnung rechtsventrikulär arbeitendes Herz	33
2.4	Versuchsprotokoll	35
3.1	Herzzeitvolumen linksventrikulär arbeitender Herzen	45
3.2	Herzzeitvolumen rechtsventrikulär arbeitender Herzen	45

Tabellenverzeichnis

2.1	Herkunft der verwendeten Chemikalien	22
2.2	Zusammensetzung des Perfusats und der Tyrode-Lösung	22
2.3	Zusammensetzung der verwendeten Präservationslösungen	23
2.4	Versuchsgruppen	37
2.5	Ausschlusskriterien	37
3.1	Lebendgewicht, Herzgewicht und Ödembildung	41
3.2	Koronarfluss in der Reperfusionsphase (Minute 1)	41
3.3	Funktionelle Daten linksventrikulär arbeitender Herzen	43
3.4	Funktionelle Daten rechtsventrikulär arbeitender Herzen	44
3.5	Herzen ohne Auswurfleistung	46
3.6	Freisetzung von Metaboliten in der Reperfusion	49
4.1	Freisetzung von Glykokalyxbestandteilen in der frühen Reperfusion . . .	56

Abkürzungsverzeichnis

- ° C: Grad Celcius
- ANP: Atriales natriuretisches Peptid
- AG: Aktiengesellschaft
- ARDS: Adult Respiratory Distress Syndrom
- Az: Aktenzeichen
- Ca^{2+} : Calcium
- CaCl_2 : Calciumchlorid
- $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$: Calciumchlorid-Dihydrat
- cm: Zentimeter
- cm H_2O : Zentimeter Wassersäule
- DAMP: Damage-associated molecular patterns
- DNS: Desoxyribonukleinsäure
- DW: *dry weight*, Trockengewicht
- et al.: und andere
- FGF: Fibroblast growth factor
- g: Gramm
- GmbH: Gesellschaft mit beschränkter Haftung
- HELLP: Haemolysis, Elevated Liver enzyme levels, Low Platelet count
- HES: Hydroxyethylstärke
- HTK: Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung
- K^+ : Kalium
- KCl: Kaliumchlorid
- kDa: Kilodalton
- kg: Kilogramm
- KH_2PO_4 : Kaliumdihydrogenphosphat
- L: Liter
- Mg^{2+} : Magnesium
- $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$: Magnesiumchlorid-Hexahydrat
- MgSO_4 : Magnesiumsulfat
- μg : Mikrogramm
- μmol : Mikromol
- min: Minute
- ml: Milliliter
- mmol: Millimol
- MV: Minutenvolumen
- Na^+ : Natrium
- NaCl: Natriumchlorid
- ng: Nanogramm
- NaHCO_3 : Natriumhydrogencarbonat
- nm: Nanometer
- nmol: Nanomol
- NO: Stickstoffmonoxid

- P: Nachlast
- P1: Probenentnahme während der frühen Reperfusion (Minuten 1-3)
- P2: Probenentnahme während der späten Reperfusion (Minuten 17-20)
- pH: negativ dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
- S.: Seite
- SOD: Superoxiddismutase
- $\text{TNF}\alpha$: Tumornekrosefaktor α
- TRIS: Tris-Hydroxymethylaminomethan, Trometamol
- UW: University-of-Wisconsin-Lösung
- VA-ECMO: veno-arterielle extrakorporale Membranoxygenierung
- vgl.: vergleiche
- WW: *wet weight*, Feuchtgewicht
- z.B.: zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Die Herztransplantation

1.1.1 Einführung

Bis zu 2% der Gesamtbevölkerung leiden an einer Herzinsuffizienz, wobei die Prävalenz in den höheren Altersgruppen deutlich zunimmt [172]. Bei dieser Erkrankung ist das Herz der Patienten trotz normaler ventrikulärer Füllungsdrücke nicht in der Lage, ein zur Deckung des Sauerstoffbedarfes des Organismus ausreichendes Herzzeitvolumen zu erzielen, was für die betroffenen Patienten eine deutliche Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit sowie den Verlust von Lebensqualität und Lebenszeit bedeutet [165, 172]. Die Transplantation eines Spenderherzens ist heute ein etabliertes Therapieverfahren für Patienten mit weit fortgeschrittener Herzinsuffizienz, die trotz einer optimalen Therapie weiter schwer symptomatisch sind [131, 165].

Entwickelt wurde die Technik der orthotopen Herztransplantation 1960 in Stanford von Norman Shumway und Richard Lower [153, 155]. Christiaan Barnard führte 1961 in Kapstadt, Südafrika, die erste Herztransplantation bei einem Menschen durch [15].

Der Durchbruch gelang dem Verfahren aber erst, nachdem durch Fortschritte unter anderem bei der immunsuppressiven Therapie eine deutliche Verlängerung der Lebenserwartung der transplantierten Patienten erreicht werden konnte [84]. Die erste erfolgreiche Herztransplantation in Deutschland erfolgte 1981 in München [252]. Bis heute wurden weltweit bereits über 100.000 Herzen transplantiert [157].

Die mittlere Lebenserwartung von Patienten nach einer Herztransplantation liegt auch heute noch unter der der Normalbevölkerung [157]. Verantwortlich dafür ist neben den vermehrt auftretenden malignen Erkrankungen und Abstoßungsreaktionen vor allem die Transplantatvaskulopathie, eine rasch progrediente und schwer therapierbare Form der

1 Einleitung

Arteriosklerose, die nur bei den Empfängern einer Herztransplantation auftritt [61, 157]. Das erste Jahr nach der Transplantation weist mit 10-20% die höchste Letalität auf, wobei in diesem Zeitraum die meisten Patienten aufgrund von Infektionen oder dem primären Transplantatversagen versterben, also dem Versagen des transplantierten Organs während oder unmittelbar nach dem Eingriff [115, 157].

1.1.2 Primäres Transplantatversagen nach Herztransplantation

Bei einem primären Transplantatversagen kann das transplantierte Organ unmittelbar nach der Transplantation das vom Organismus des Empfängers benötigte Herzzeitvolumen nicht erbringen [115].

Ursächlich für diese Störung sind verschiedene Faktoren, die vor, während und nach der Transplantation schädigend auf das gesunde Organ des Spenders einwirken und deren Ausprägungen den Schweregrad der Funktionsstörung bestimmen [115, 241].

So kommt es durch den Hirntod des Spenders zu einer massiven Ausschüttung von Katecholaminen [88]. Dies hat eine vornehmlich rechtsventrikuläre kardiale Funktionsstörung zur Folge und verursacht über proinflammatorische und proapoptotische Signalkaskaden einen histologisch sichtbaren Myokardschaden [25, 29, 190, 200, 240]. Eine katecholaminpflichtige Kreislaufinsuffizienz beim Spender erhöht das Risiko für das Auftreten eines primären Transplantatversagens deutlich [71, 115, 224].

Als ein weiterer Risikofaktor gilt ein höheres Lebensalter des Spenders [220, 230, 278]. Gehäuft tritt ein primäres Transplantatversagen bei den Patienten auf, die aufgrund der Schwere ihrer Erkrankung bereits vor der Transplantation intensivmedizinisch betreut werden mussten und von einer maschinellen Beatmung oder einem mechanischen Kreislaufunterstützungsverfahren abhängig waren [70, 220, 237, 278]. Dabei sind die im Körper dieser kritisch kranken Patienten herrschenden „feindlichen Umgebungsbedingungen“ für die gestörte Pumpfunktion der transplantierten Herzen verantwortlich [115]. So beeinflussen die im Blut dieser Patienten zirkulierenden proinflammatorischen Zytokine wie Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und Interleukin-1 β die myokardiale Pumpfunktion negativ [43, 110, 115].

Ein weiterer Risikofaktor ist der bei vielen Organempfängern bestehende erhöhte Gefäßwiderstand in der Lungenstrombahn [78, 239, 115]. Anders als das native Herz ist das transplantierte Organ daran nicht adaptiert und der muskelschwache rechte Ventrikel

1 Einleitung

kann die akut erhöhte Nachlast nur eingeschränkt kompensieren [1, 98, 100, 257]. Während der Ischämiephase und anschließenden Reperfusion kommt es trotz der umfangreichen zum Schutz der Organs ergriffenen Maßnahmen immer zu einer Schädigung des Organs [11, 115, 198]. Daher trägt die Ischämiedauer relevant zur Entwicklung eines primären Transplantatversagens bei [13, 157, 162, 214, 220].

Bei der intensivmedizinischen Therapie des primären Transplantatversagens werden Vasopressoren und positiv inotrop wirksame Medikamente verabreicht, um eine Verbesserung der myokardialen Pumpfunktion und eine hämodynamische Stabilisierung zu erreichen [115, 239, 266]. Der pulmonalarterielle Gefäßwiderstand kann durch die Gabe von inhalativen Vasodilatoren wie Stickstoffmonoxid (NO) gesenkt werden [44, 115]. Eine neue Therapieoption stellt die veno-arterielle extrakorporale Membranoxygenierung (VA-ECMO) dar, die bei einem Versagen der pharmakologischen Therapie zur Aufrechterhaltung des Kreislaufs eingesetzt wird [69, 152, 162, 163].

Trotz dieser umfangreichen intensivmedizinischen Therapie versterben immer noch bis zu 66% der von einem primären Transplantatversagen betroffenen Patienten [65, 70, 230, 234]. Damit stellt das primäre Transplantatversagen weiterhin die häufigste Todesursache im ersten Monat und die zweithäufigste im ersten Jahr nach einer Herztransplantation dar [115, 157].

Besorgniserregend ist, dass mehrere aktuelle Arbeiten von einer steigenden Inzidenz des primären Transplantatversagens berichten [69, 115, 163, 230, 245]. Dies kann zumindest teilweise darauf zurückgeführt werden, dass aufgrund des bestehenden Organmangels zunehmend auch Organe älterer Spender akzeptiert werden [70, 148, 157]. Die unverändert hohe Letalität und die zunehmende Inzidenz des primären Transplantatversagens unterstreichen die Bedeutung einer weiteren Optimierung der zum Schutz des Organs während Ischämie und Reperfusion getroffenen Maßnahmen.

1.1.3 Aktueller Standard der Organprotektion bei Ischämie und Reperfusion

Während bei den ersten Herztransplantationen Spender und Empfänger in benachbarten Operationssälen lagen, befinden sie sich heute meist in weit voneinander entfernten Krankenhäusern [259]. Der Schutz des Organs während der Ischämiephase zwischen der Explantation und der Reperfusion im Körper des Empfängers stellt daher eine der zentralen Herausforderungen der Transplantationsmedizin dar [158, 259].

Klinischer Standard ist die statische Kaltlagerung, bei der durch eine extreme Hypothermie und einen induzierten Herzstillstand der Energiebedarf des Organs deutlich gesenkt wird [27, 56, 58, 259]. Lower und Shumway konnten 1962 im Tierexperiment Herzen nach mehrstündiger Lagerung in 2° bis 4° C kalter isotoner Kochsalzlösung erfolgreich transplantieren [154].

Die von Bretschneider und Mitarbeitern entwickelte Kardioplegie stellt durch den Einsatz speziell zusammengesetzter Elektrolytlösungen bei der Organentnahme einen schnellen elektrischen und mechanischen Herzstillstand sicher [35, 215].

Trotz dieser Vorkehrungen kommt es aber während der Ischämieperiode rasch zu einer intrazellulären Verarmung an energiereichen Phosphatverbindungen [158]. Die durch Energiemangel und Hypothermie eingeschränkte Funktion von Ionenpumpen führt zu einer Zellschwellung [124, 158]. Mit zunehmender Ischämiedauer entsteht eine intra- und extrazelluläre Azidose [124].

Jennings et al. zeigten 1960, dass überraschenderweise die Reperfusion mehr Schaden in den betroffenen Organen verursacht als die Ischämie selbst [125]. Dieser Reperfusionsschaden entsteht durch verschiedene Mechanismen [91, 276].

So kommt es beim Ausgleich der intrazellulären Azidose durch Elektrolytverschiebungen zu einer intrazellulären Kalziumüberladung, die einen Zelltod auslösen kann [91]. Eine zentrale Rolle spielt die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies (freie Radikale), die Schäden an der DNS, der Zellmembran und den Proteinen und Enzymen der Zelle anrichten [17, 91]. Dieser unspezifische Zellschaden aktiviert durch das Freiwerden von als „Gefahrensignale“ wirkenden Zellbestandteilen (Damage-associated molecular patterns, DAMP) Signalkaskaden, die über die Freisetzung von TNF- α und die Stimulation von Toll-like receptors eine Inflamationsreaktion initiieren und so das Organ weiter schädigen [83, 96, 91, 136, 251].

1 Einleitung

Um die Organe während der Ischämieperiode und der Reperfusion besser schützen zu können, entwickelte Collins 1969 die erste Präservationslösung [59]. Diese und alle in der Folge entwickelten Kardioplegie- und Organpräservationslösungen enthalten osmotisch wirksame Substanzen gegen die Zellschwellung, Puffersysteme und zum Teil Antioxidantien [124, 158]. Die Elektrolytzusammensetzung stellt durch eine schnelle Depolarisierung der Zellmembran den raschen Herzstillstand sicher [124].

Obgleich bisher weit über 100 Lösungen mit unterschiedlicher Zusammensetzung untersucht und zum Teil klinisch eingesetzt wurden, geht die Suche nach der optimalen Präservationslösung auch heute unverändert weiter [76, 123].

Bei der Entwicklung der heute klinisch eingesetzten Präservationslösungen lag der Fokus auf dem Schutz der Kardiomyozyten [198]. Das Koronarendothel wird durch diese Lösungen nur unzureichend erhalten und teilweise sogar geschädigt [103, 198]. Dabei reagieren die Endothelzellen der Koronargefäße viel empfindlicher auf Ischämie und Reperfusion als die Kardiomyozyten. So fiel im Tierexperiment die Erholung der endothelabhängigen Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) nach einstündiger ungeschützter kalter Ischämie und Reperfusion deutlich geringer aus als die initiale Erholung der myokardialen Pumpfunktion [161]. Stickstoffmonoxid ist an der Steuerung des koronaren Blutflusses beteiligt und seine verminderte Freisetzung führt zu einer Reduktion der Koronarperfusion und konsekutiv zu einer relevanten Einschränkung der myokardialen Pumpfunktion [4, 104, 130, 160].

Eine Störung der Endothelfunktion durch Ischämie und Reperfusion begünstigt also das Auftreten eines primären Transplantatversagens [198]. Gleichzeitig ist dieser Endothelschaden ein wichtiger Faktor in der Pathogenese der Transplantatvaskulopathie und beeinflusst dadurch auch das Langzeitüberleben der Patienten nach einer Herztransplantation [61, 253].

Zukünftige Präservationslösungen müssen daher nicht nur den Erhalt der Kardiomyozyten, sondern auch einen bestmöglichen Schutz von Struktur und Funktion der Endothelzellen während Ischämie und Reperfusion gewährleisten [198].

1 Einleitung

Dabei könnte die endotheliale Glykokalyx eine zentrale Rolle spielen, eine Schicht aus Proteinen mit Kohlenhydratseitenketten auf der dem Blutstrom zugewandten Seite der Endothelzellen [205]. In den letzten Jahren wurde immer mehr die wichtige Rolle deutlich, die diese lange kaum beachtete Struktur sowohl für viele physiologische Funktionen als auch bei unterschiedlichen Erkrankungen des Gefäßendothels spielt [49, 217].

Die Bedeutung der koronaren endothelialen Glykokalyx für die Organprotektion bei der Herztransplantation wurde bisher noch nicht untersucht.

1.2 Die endotheliale Glykokalyx

1.2.1 Einführung

Das Gefäßsystem unseres Körpers wird von einer Schicht Endothelzellen ausgekleidet [204]. Diese spielen eine wichtige Rolle in der Physiologie des Kreislaufsystems und in der Pathogenese verschiedener Erkrankungen [94, 204].

Die Endothelzellen tragen auf ihrer dem Blutstrom zugewandten Seite die endotheliale Glykokalyx, einen Saum aus membranständigen Proteinen mit Kohlenhydratseitenketten [23, 217]. Dieses Netzwerk bindet Plasmaproteine und andere Moleküle aus dem Blutstrom und einen Teil des Plasmawassers [264]. Dadurch entsteht der Endothelial Surface Layer, eine gelartige Schicht zwischen der Oberfläche der Endothelzellen und dem fließenden Blutstrom [205].

Bereits 1947 vermuteten Chambers und Zweifach, dass auf der luminalen Seite der Endothelzellen eine von ihnen Endocapillary Layer genannte schmale zellfreie Schicht existiert [45].

John H. Luft konnte 1966 mit Hilfe der Elektronenmikroskopie eine 20 nm dünne Schicht auf der Oberfläche der Endothelzellen darstellen [156]. Diese Struktur blieb jedoch lange weitgehend unbeachtet, da ihre geringe anatomische Ausdehnung eine relevante physiologische Funktion unwahrscheinlich erscheinen ließ [49].

Heute aber kann mit der Intravitalmikroskopie und neuen Techniken bei der Elektronenmikroskopie ein deutlich breiterer Endothelial Surface Layer sichtbar gemacht werden, mit einer Ausdehnung von bis zu 500 nm in Kapillaren und mehreren Mikrometern in größeren Gefäßen [117, 166, 206, 255].

Die Erkenntnisse verschiedener Forschungsgruppen haben unser Verständnis für den komplexen und dynamischen Aufbau und die vielfältigen physiologischen Funktionen dieser ebenso faszinierenden wie fragilen Struktur vertieft [49, 119, 204, 217, 264].

Inzwischen rückt die Rolle der endothelialen Glykokalyx bei verschiedenen Erkrankungen und damit die Suche nach neuen Therapiestrategien immer mehr in den Mittelpunkt des Interesses [19, 37, 49].

1.2.2 Aufbau der endothelialen Glykokalyx

Die endotheliale Glykokalyx besteht aus Glykoproteinen mit kurzen, verzweigten Kohlenhydratseitenketten und den Proteoglykanen (siehe Abbildung 1.1 auf Seite 9) [205]. Letztere tragen an ihren Kernproteinen lange, unverzweigte Kohlenhydratseitenketten, die durch die vielfache Wiederholung eines einzelnen Disaccharids gebildet und als Glykosaminoglykane bezeichnet werden [116, 132]. Die Glykosaminoglykane werden nach der Zusammensetzung ihres Disaccharids in verschiedene Klassen eingeteilt [116]. In der endothelialen Glykokalyx sind Glykosaminoglykane aus der Klasse der Heparansulfate am häufigsten vertreten [205, 217].

Noch während ihrer Polymerisation wird die Kohlenhydratkette der Glykosaminoglykane enzymatisch verändert [86]. Dabei werden vor allem durch das Anbringen von Sulfatresten negative Ladungen auf verschiedene Positionen der Kohlenhydratringe verteilt [26]. Die Modifikationen werden ungleichmäßig über die Glykosaminoglykankette verteilt, so dass zwischen langen unveränderten Abschnitten einige kurze, hochmodifizierte Sequenzen entstehen [26, 86]. Diese Sequenzen besitzen viele negative Ladungen und können als Bindungsstelle für eine Vielzahl unterschiedlicher Liganden dienen [86]. Aus der an sich einfachen Grundstruktur entstehen so komplexe Glykosaminoglykanketten mit sehr heterogener Zusammensetzung und variablen Eigenschaften [26, 208, 242]. Die Steuerung dieser komplexen Prozesse ist bis heute völlig ungeklärt [86].

Die Proteoglykane auf der Oberfläche der Endothelzellen werden konstant durch Enzyme abgebaut [217]. Dabei spalten Endoglykosidasen wie Heparanase die Glykosaminoglykane von ihrem Trägerprotein ab [67, 146, 112]. Extrazelluläre Proteasen lösen die Kernproteine der Proteoglykane von der Zelloberfläche [150, 247]. Durch dieses konstante Gleichgewicht aus Neusynthese und enzymatischem Abbau können die Endothelzellen die Zusammensetzung und Eigenschaften ihrer endothelialen Glykokalyx ständig verändern und sich so rasch an veränderte Umgebungsbedingungen anpassen [67, 217, 264].

Die vielen unterschiedlichen Glykoproteine auf der Oberfläche der Endothelzellen zählen ebenfalls zur endothelialen Glykokalyx [205]. Sie tragen kurze, verzweigte Kohlenhydratseitenketten mit dem negativ geladenen Monosaccharid Sialinsäure¹ an der Spitze [217, 264].

¹Synonym: Neuraminsäure

1 Einleitung

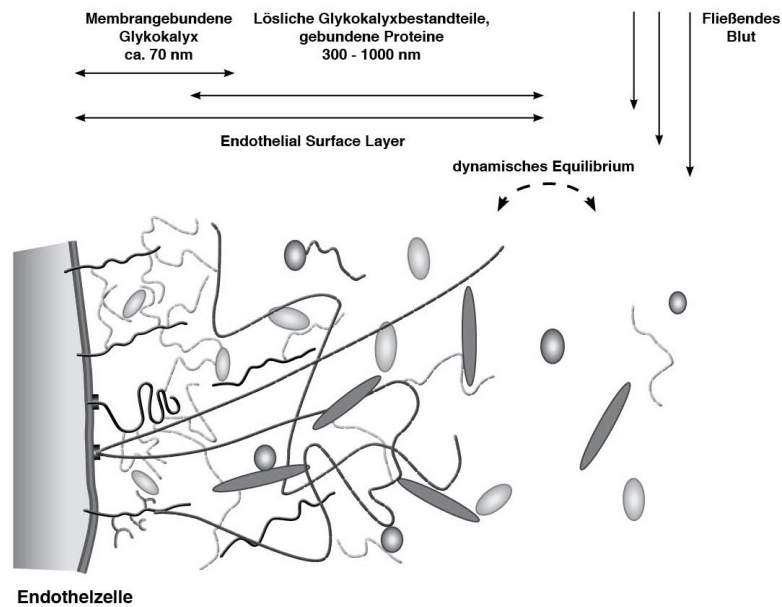


Abbildung 1.1: Der Endothelial Surface Layer (nicht maßstabsgetreu, modifiziert nach [204])

Einen weiteren Baustein der endothelialen Glykokalyx bildet mit Hyaluronan² ein Glykosaminoglykan, das in vielen Punkten eine Sonderstellung einnimmt [217, 264]. So ist es nicht als Seitenkette an ein Proteoglykan gebunden, sondern durch Interaktionen mit Glykoproteinen und anderen Glykosaminoglykanen auf der Oberfläche der Endothelzellen verankert [73, 181, 264]. Mit einer Kettenlänge von zehntausend und mehr Disacchariden übertrifft Hyaluronan die anderen Glykosaminoglykane um ein Vielfaches und wird noch während der Synthese durch die an der Innenseite der Zellmembran gelegenen Hyaluronansynthasen sukzessive aus dem Zytosol abgegeben [114, 113, 142, 262]. Obwohl die Kohlenhydratreste seiner Kette nicht enzymatisch modifiziert werden, besitzt das Hyaluronan aufgrund seiner Carboxylgruppen negative Ladungen und kann Wassermoleküle und andere Liganden binden [141, 264].

Die Oberfläche der Endothelzellen trägt also ein dichtes Geflecht aus Glykoproteinen, Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen, das eine große Anzahl negativer Ladungen aufweist [248]. An dieses polyanionische Netz binden sich in vivo zahlreiche verschiedenste Liganden [205, 264]. Eine quantitativ große Rolle spielen dabei Albumin und die

²Synonym: Hyaluronsäure

1 Einleitung

anderen Plasmaproteine [2]. Daneben zählen Elektrolyte, Enzyme und deren Substrate, Enzyminhibitoren, Zytokine und Chemokine sowie kationische Aminosäuren zu den Liganden [205, 264]. Dazu kommen noch lösliche Glykosaminoglykane und Proteoglykane, die enzymatisch aus der endothelialen Glykokalyx freigesetzt oder direkt von den Endothelzellen sezerniert wurden [205, 217]. Diese löslichen Proteoglykane und Glykosaminoglykane lagern sich in und auf der endothelialen Glykokalyx an und erweitern deren Ausdehnung zur Gefäßmitte hin [205, 204, 217]. Auch ein Teil des Plasmawassers wird von den Glykosaminoglykanen gebunden und nimmt nicht am Blutstrom teil [264].

In vivo bilden die endotheliale Glykokalyx, die löslichen Glykokalyxbestandteile, die angelagerten Proteine und anderen Liganden zusammen mit dem gebundenen Plasmawasser den Endothelial Surface Layer, eine gelartige Schicht zwischen der Endotheloberfläche und dem fließenden Blut [2, 205]. Die langen Glykosaminoglykanketten der Hyaluronane stellen vermutlich ein wichtiges stabilisierendes Element dieser Struktur dar [106, 217].

Während die Höhe der membranständigen Proteoglykane der endothelialen Glykokalyx etwa 70 nm beträgt, konnte in Kapillaren ein Endothelial Surface Layer beobachtet werden, der mit bis zu 500 nm die Dicke der Endothelzellen übertrifft [117, 204, 255]. Seine Ausdehnung nimmt mit dem Gefäßdurchmesser zu und beträgt in den großen Arterien mehrere Mikrometer [168, 255]. Mit Indikator-Dilutionsverfahren konnte bestimmt werden, dass bis zu einem Viertel des Plasmawassers im Endothelial Surface Layer gebunden ist und nicht am Blutstrom teilnimmt [211].

Zwischen dem Endothelial Surface Layer und dem fließenden Blut besteht ein ständiger Stoffaustausch (dynamisches Equilibrium) [205]. Zusammensetzung und Ausdehnung des Endothelial Surface Layer werden von einer Vielzahl verschiedener Faktoren wie der Elektrolytkonzentrationen, dem pH-Wert und der sich ständig verändernden Zusammensetzung der endothelialen Glykokalyx beeinflusst und sind damit ständigen Schwankungen unterworfen [67, 205, 204, 264].

Der Endothelial Surface Layer ist die in vivo bestehende Wirkform der endothelialen Glykokalyx [49, 205, 204, 264]. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden deshalb beide Begriffe synonym verwendet.

Mit ihrer Position zwischen den Endothelzellen und dem fließenden Blut erfüllt die endotheliale Glykokalyx verschiedene wichtige physiologische Funktionen [49, 217].

1.2.3 Die physiologische Funktion der endothelialen Glykokalyx

Die endotheliale Glykokalyx als Mechanosensor

Zu den physiologischen Funktionen der endothelialen Glykokalyx gehört die Übertragung der vom Blutstrom auf die Endothelzellen ausgeübten mechanischen Schubspannung (shear stress) in intrazelluläre biologische Signalkaskaden (Mechanotransduktion) [72, 248]. Die Schubspannung löst so Veränderungen der Morphologie und Funktion der Endothelzellen aus, wie z.B. die Ausschüttung des Vasodilatators Stickstoffmonoxid (NO) [5, 218]. Diese Reaktionen sind elementar für die ordnungsgemäße Funktion des Kreislaufsystems und hier auftretende Störungen sind ein Schritt in der Pathogenese der Arteriosklerose und anderer Erkrankungen [6].

Verschiedene Arbeiten haben die Rolle der endothelialen Glykokalyx bei der Mechanotransduktion untersucht [248]. So bleiben bei in einem proteinhaltigen Medium kultivierten Endothelzellen durch Schubspannung ausgelöste Veränderungen des Zytoskeletts sowie die Ausrichtung der Zellform nach der Flussrichtung aus, wenn zuvor die Heparansulfatseitenketten enzymatisch entfernt wurden [250, 274]. In anderen Versuchen konnte gezeigt werden, dass auch die durch Schubspannung ausgelöste Stickstoffmonoxid-Ausschüttung durch eine enzymatische Abspaltung von verschiedenen Glykokalyxbestandteilen wie Heparansulfat, den terminalen Sialinsäuren der Glykoproteine und Hyaluronan blockiert werden kann [89, 105, 197].

Die Rolle der endothelialen Glykokalyx bei der Mechanotransduktion erklärt ein von Weinbaum et al. vorgestelltes Modell. Danach löst die Schubspannung an den Kernproteinen der Proteoglykane ein Drehmoment aus, das über deren Transmembrandomänen auf das Zytoskelett der Endothelzelle übertragen wird und so verschiedene intrazelluläre Signalkaskaden aktiviert [265, 264].

Die endotheliale Glykokalyx ist also einer der Mechanosensoren der Endothelzellen und vermittelt unter anderem die schubspannungsabhängige Freisetzung von Stickstoffmonoxid [6, 68].

Feinsteuerung von Signalwegen und enzymatischen Reaktionen

Aufgrund ihrer faszinierenden strukturellen Vielfalt können die Glykosaminoglykane der endothelialen Glykokalyx eine Vielzahl unterschiedlicher Liganden binden [30, 86, 217]. Dadurch können sie Interaktionen zwischen Rezeptoren auf der Oberfläche der Endothelzellen und deren Liganden ebenso beeinflussen wie die zwischen Enzymen und deren Substrat [217]. Die Bindung an die Glykosaminoglykane kann die Konzentration eines Substrates oder eines Liganden örtlich begrenzt erhöhen, Konformationsänderungen eines Liganden auslösen oder die Position von Rezeptor und Ligand zueinander verbessern [208, 217].

Die Bindung von Rezeptor und Ligand an die Glykosaminoglykane der endothelialen Glykokalyx stellt zum Beispiel für den Fibroblast-growth-factor (FGF)-Signalweg eine unabdingbare Voraussetzung für die Signalübertragung dar [209, 217, 225, 275].

Außerdem bindet die endotheliale Glykokalyx eine Vielzahl verschiedener Enzyme und deren Substrate [217]. Dadurch kann die Geschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion beeinflusst werden, vergleichbar mit der Wirkung des Glykosaminoglykans Heparin auf die antikoagulatorische Wirkung von Antithrombin [126, 208].

Zu den an die endotheliale Glykokalyx gebundenen Enzymen zählen auch antioxidativ wirksame Enzyme wie die Superoxiddismutase (SOD) sowie Enzyme wie Antithrombin und Tissue plasminogen activator, die der Steuerung der Gerinnungs- und Fibrinolyseaktivität dienen [86, 217]. Durch die Bindung dieser Enzyme an das Endothel und die Regulation ihrer Reaktionen trägt die endotheliale Glykokalyx wesentlich zum Schutz des Gefäßsystems vor Sauerstoffradikalen und vor einer fehlgeleiteten Gerinnungsaktivierung bei [217].

Auch bei der Endozytose spielt die endotheliale Glykokalyx eine wichtige Rolle, indem sie die aufzunehmenden Moleküle an die Zelloberfläche bindet [57].

Die endotheliale Glykokalyx dient durch ihre vielfältigen Interaktionen mit verschiedenen Bindungspartnern zur Feinsteuerung von Signalwegen und enzymatischen Reaktionen und ermöglicht durch ihre rasch modifizierbare Zusammensetzung den Endothelzellen eine schnelle Anpassung an sich verändernde Umgebungsbedingungen [30, 217].

Die endotheliale Glykokalyx als Teil der Gefäßbarriere

Landis und Pappenheimer stellten 1963 ein auf der zuvor von Ernest H. Starling veröffentlichten Hypothese und ihren experimentellen Untersuchungen aufbauendes Modell vor, nach dem die Flüssigkeitsverschiebungen über die Gefäßwand von den hydrostatischen und kolloidosmotischen Druckdifferenzen zwischen Gefäßlumen und Interstitium bestimmt werden [139, 236]. Als Starling-Gesetz oder Starling-Gleichung findet dieses Modell bis heute Eingang in die Lehrbücher³ [138, 145]:

$$\frac{F}{A} = C_H[(P_{HV} - P_{HI}) - \sigma(\pi_{OV} - \pi_{OI})].$$

Aus späteren Untersuchungen des lange experimentell unzugänglichen Interstitiums konnten aber neue Ergebnisse gewonnen werden, die mit dem Starling-Gesetz nicht in Einklang zu bringen waren [20, 119, 145].

So ist der kolloidosmotische Druck im Interstitium deutlich höher als angenommen [16, 143]. Eingesetzt in die Starling-Gleichung ergibt dies einen Überschuss an filtrierter Flüssigkeit, die über die Lymphbahn abfließen müsste. Der tatsächlich gemessene Lymphfluss ist aber deutlich niedriger als der errechnete Überschuss, was durch die Starling-Gleichung nicht erklärt werden kann (low-lymph-flow-Paradox) [143, 144].

Jacob et al. konnten 2006 an isoliert perfundierten Säugetierherzen zeigen, dass das natürliche Kolloid Albumin die Rate der Flüssigkeitsfiltration aus dem Koronarsystem effektiver senkt als das künstliche Kolloid Hydroxyethylstärke. Dabei blieb die Filtrationsrate auch dann unverändert niedrig, wenn die Albuminkonzentration deutlich unter den physiologischen Bereich gesenkt wurde [118]. Um diese Ergebnisse zu erklären, müsste der osmotische Reflexionskoeffizient σ der Starling-Gleichung bei niedrigen Albuminkonzentrationen größer als 1 werden, was eine Reflexion von mehr als 100% bedeuten würde [20, 145].

Albumin scheint also unabhängig von seiner kolloidosmotischen Wirkung noch auf eine andere Art der Filtration von Flüssigkeit aus dem Gefäßsystem entgegenzuwirken [20, 119].

³ $\frac{F}{A}$: Filtrationsrate pro Fläche, C_H : hydraulische Leitfähigkeit, $P_{HV} - P_{HI}$: hydrostatischer Druckgradient zwischen Gefäßlumen (V) und Interstitium (I), σ : Reflexionskoeffizient für das Kolloid, $\pi_{OV} - \pi_{OI}$: kolloidosmotische Druckdifferenz zwischen Gefäßlumen (V) und Interstitium (I)

1 Einleitung

Chambers und Zweifach vermuteten bereits 1947, dass ein „endocapillary layer“, eine dünne zellfreie Schicht auf der luminalen Seite der Endothelzellen existiert und einen Teil der Gefäßbarriere darstellt [45].

In einem 50 Jahre später von Weinbaum und Michel unabhängig von einander veröffentlichten Modell fungiert der Endothelial Surface Layer als ein wichtiger Bestandteil der Gefäßbarriere, indem er als Filter für Makromoleküle die Plasmaproteine zurückhält [169, 263]. Das proteinarme Ultrafiltrat sammelt sich in einem dünnen Raum unterhalb der Glykosaminoglykane der endothelialen Glykokalyx, wodurch dort ein deutlich niedrigerer kolloidosmotischer Druck als in dem oberhalb des Endothelial Surface Layer fließenden, plasmaproteinhaltenen Blut herrscht [3, 169, 263].

Der kolloidosmotische Druckgradient der Starling-Gleichung wird also nicht über die Endothelzellen, sondern über den Endothelial Surface Layer aufgebaut [20, 119, 145]. Die von Levick und Michel aufgestellte überarbeitete Starling-Gleichung trägt dem Rechnung, indem sie den kolloidosmotischen Druck im Interstitium π_{OI} durch den kolloidosmotischen Druck unterhalb der endothelialen Glykokalyx π_{OG} ersetzt [145]:

$$\frac{F}{A} = C_H[(P_{HV} - P_{HI}) - \sigma(\pi_{OV} - \pi_{OG})].$$

Dieses Modell löst das low-lymph-flow-Paradox und erklärt den zusätzlichen filtrationshemmenden Effekt von Albumin, das als Plasmaprotein eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Endothelial Surface Layer spielt [20, 119].

Beobachtungen unter pathologischen Bedingungen mit gestörter Gefäßbarriere unterstreichen die Bedeutung der Barrierefunktion des Endothelial Surface Layer [19, 49]. So führt die durch Ischämie oder Histamin verursachte Erweiterung der interzellulären Spalten zu einer Störung der Barrierefunktion der Endothelzellen, aber bei intaktem Endothelial Surface Layer nicht zu einer signifikanten Zunahme der Filtration. Dazu kommt es erst, wenn zusätzlich der Endothelial Surface Layer durch enzymatischen Abbau zerstört wurde [212].

Der Endothelial Surface Layer stellt also zusätzlich zu den Endothelzellen eine zweite kompetente Barriere gegen die Extravasation von Flüssigkeit aus dem Gefäßbett dar („Double-Barrier-Konzept“) [20, 119, 212].

1 Einleitung

Interaktion mit den Blutzellen

Die endotheliale Glykokalyx beeinflusst außerdem das Verhalten der zellulären Bestandteile des Blutes in der Mikrozirkulation [217, 264].

So nutzen Erythrozyten nach der Auflösung des Endothelial Surface Layer einen deutlich größeren Teil des Kapillarlumens als zuvor [255, 256]. Die bereits früher beobachtete Ausbildung eines zellfreien Saums an den Rändern des Gefäßlumens ist also darauf zurückzuführen, dass die Erythrozyten aus dem Endothelial Surface Layer mechanisch ausgeschlossen werden [205, 229]. Der Endothelial Surface Layer trägt damit wesentlich zum Flusswiderstand in den Kapillaren und dem niedrigen Kapillarhämatokrit bei [62, 206, 205].

Der Übertritt von Leukozyten aus der Blutbahn in das betroffene Gewebe ist ein zentraler Schritt bei Inflammationsreaktionen des Körpers auf Gewebeschädigungen [177]. Die endotheliale Glykokalyx spielt dabei eine Doppelrolle [217]. Auf der einen Seite sind die bei der Adhäsion und Diapedese der Leukozyten beteiligten Adhäsionsmoleküle auf der Endotheloberfläche Bestandteil der endothelialen Glykokalyx [205, 272]. Gleichzeitig werden diese etwa 10 nm großen Moleküle durch den im physiologischen Normalzustand 300 bis 500 nm breiten Endothelial Surface Layer überdeckt und sind für die Leukozyten nicht zugänglich [19, 150, 174, 205, 217].

Im Rahmen von Inflammationsreaktionen können Zytokine wie $\text{TNF-}\alpha$ und Interleukin-1 eine Freisetzung von Sauerstoffradikalen und Proteasen aus Leukozyten und Endothelzellen auslösen [102, 150, 174]. Dadurch kommt es durch einen massiven Anstieg der enzymatischen Abspaltung von Glykokalyxbestandteilen zur Auflösung des Endothelial Surface Layer, was durch die Freilegung der Adhäsionsmoleküle eine deutliche Zunahme der am Endothel adhärenierten Leukozyten zur Folge hat [48, 63, 107, 174].

Auch eine Zunahme der an das Endothel adhärenierten Thrombozyten konnte nach der Auflösung des Endothelial Surface Layer beobachtet werden [254].

1.2.4 Pathophysiologische Bedeutung und Ziel neuer Therapien

Die endotheliale Glykokalyx stellt also eine faszinierende Struktur mit verschiedenen physiologischen Aufgaben dar, die aber sehr fragil und durch verschiedene schädigende Einflüsse bedroht ist [20, 49, 217].

Bereits die Lichtintensität bei intravitalmikroskopischen Fluoreszenzuntersuchungen führte zu einer Auflösung dieser Struktur [255]. Verursacht wird dies durch bei dieser Untersuchungstechnik entstehende Sauerstoffradikale, deren schädigender Einfluss auf die endotheliale Glykokalyx in mehreren Arbeiten gezeigt werden konnte [24, 62, 63, 205, 219, 254].

Außerdem kann die endotheliale Glykokalyx durch Enzyme zerstört werden [264]. Verantwortlich dafür sind zum einen Endoglykosidasen wie Heparanase, die Glykosaminoglykane spalten und zum anderen Proteasen, die die Kernproteine der Proteoglykane von der Endotheloberfläche ablösen können [89, 150, 197, 264]. Ausgelöst werden kann dieses „Shedding“ zum Beispiel durch natriuretische Peptide wie ANP⁴ oder proinflammatorische Zytokine wie TNF- α [38, 107].

Die Auflösung der endothelialen Glykokalyx ist eine Voraussetzung für die Transmigration von Leukozyten über das Endothel im Rahmen von Inflammationsreaktionen [46, 174]. So konnte ein deutlicher Anstieg an löslichen Glykokalyxbestandteilen im Blut von Patienten nachgewiesen werden, die eine Sepsis erlitten hatten, also eine systemische Inflammationsreaktion auf Mikroorganismen oder deren Pathogene [31, 184, 183, 193, 222, 238]. Die Zerstörung der endothelialen Glykokalyx ist mitverantwortlich für die ausgeprägte Mikrozirkulationsstörung und die schwere Störung der Endothelbarriere im Rahmen eines septischen Schocks [42, 49, 54, 74].

Die Schädigung der endothelialen Glykokalyx durch Hyperglykämie [85, 188, 185, 191, 281] und Hyperlipidämie [168, 216] stellt einen relevanten Schritt in der Pathogenese der Arteriosklerose dar [37, 186, 189, 216].

Erhöhte Spiegel von Glykokalyxbestandteilen konnten im Blut von Patienten mit ST-Hebungs-Myokardinfarkt [195], HELLP-Syndrom⁵ [108], nach überlebtem Herz-Kreislaufstillstand [99], bei herzchirurgischen Eingriffen [40], bei akuter Lungenschädigung [226] und nach schweren Verletzungen [128, 127, 194, 196] nachgewiesen werden.

⁴ANP = Atriales natriuretisches Peptid

⁵HELLP=Haemolysis, Elevated Liver enzyme levels, Low Platelet count-Syndrom

1 Einleitung

Mehrere tierexperimentelle Arbeiten konnten eine Schädigung der endothelialen Glykokalyx durch Ischämie und Reperfusion beobachten [24, 39, 50, 52, 118, 175]. Im Blut von Patienten, bei denen während gefäßchirurgischer Eingriffe an der Aorta eine globale oder regionale Ischämie auftrat, konnten Rehm et al. stark erhöhte Spiegel von Glykokalyxbestandteilen nachweisen [210].

Da also die Zerstörung der endothelialen Glykokalyx ein relevanter Schritt in der Pathogenese verschiedener Erkrankungen ist, wird nun nach Interventionsmöglichkeiten zum Schutz dieser Struktur gesucht [19].

So konnte tierexperimentell das Ausmaß des von unterschiedlichen Noxen induzierten Glykokalyxschadens durch die Gabe von Hydrocortison [50, 48, 46], Antithrombin [48, 52, 46], aktiviertem Protein C [164], Stickstoffmonoxid [39], des Narkosegases Sevofluran [7, 8, 47] und des Metalloproteinase-Inhibitors Doxycyclin [176, 151] reduziert werden. Bei freiwilligen Probanden konnte der durch das Endotoxin Lipopolysaccharid ausgelöste Glykokalyxschaden mit der Gabe eines löslichen rekombinanten TNF- α -Rezeptors vermindert werden [187].

Andere Arbeiten haben sich damit beschäftigt, ob durch eine intravenöse Gabe von Glykokalyxbestandteilen die Regeneration einer zerstörten endothelialen Glykokalyx erreicht werden kann [107, 202].

Bei allen diesen Arbeiten handelt es sich um Grundlagenforschung. Maßnahmen zum Schutz der endothelialen Glykokalyx werden derzeit klinisch noch nicht eingesetzt [19]. Die einzige Ausnahme ist das von Jacob et al. vertretene Konzept zur rationalen perioperativen Flüssigkeitstherapie, das durch den differenzierten Ersatz von Flüssigkeits- und Volumenverlusten durch verschiedene Infusionslösungen eine Hypervolämie und so ein ANP-vermitteltes Shedding der Glykokalyx vermeiden will [51, 120].

1.2.5 Schutz der endothelialen Glykokalyx im Rahmen der Herztransplantation

Eine intakte endotheliale Glykokalyx erfüllt als Teil der Gefäßbarriere, als Schutzschicht gegen die Adhäsion von Leukozyten und Thrombozyten und mit der Bindung von antioxidativ wirkenden Enzymen eine Reihe von Funktionen für den Schutz des Organs bei Ischämie und Reperfusion [49, 217]. Außerdem spielt sie in der Reperfusion eine wichtige Rolle bei der Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) aus den Endothelzellen [265, 264].

Bei dem aktuellen Vorgehen zur Organentnahme für eine Herztransplantation werden plasmaproteinfreie kristalloide Präservationslösungen in die Koronarstrombahn infundiert, was die Zerstörung des Endothelial Surface Layer durch das Ausspülen seiner löslichen Bestandteile zur Folge hat [55, 149, 207, 205].

Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass durch die Zugabe von Albumin zu einer kristalloiden Perfusionslösung die Struktur und Funktion der endothelialen Glykokalyx erhalten werden kann [117].

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, ob Albumin als Bestandteil einer Präservationslösung die endotheliale Glykokalyx während einer Herztransplantation schützen kann und ob sich dadurch eine Verbesserung der postischämischen myokardialen Pumpfunktion erzielen lässt.

1.3 Fragestellung und experimenteller Ansatz

Die endotheliale Glykokalyx erfüllt wie dargelegt eine Vielzahl wichtiger physiologischer Funktionen und schützt das Endothel vor schädlichen Einflüssen.

Der Erhalt dieser ebenso faszinierenden wie fragilen Struktur wird aber bei den heute in der Transplantationsmedizin eingesetzten Verfahren zum Schutz der Organe während der Ischämiephase nicht beachtet.

Die vorliegende Arbeit soll daher folgende Fragen klären:

- Kann durch den Zusatz von Albumin zu einer kristalloiden Präservationslösung zum Einsatz bei Herztransplantationen der Endothelial Surface Layer im Koronarsystem während einer vierstündigen statischen Kaltlagerung und der anschließenden Reperfusion erhalten werden?
- Beeinflusst der Zusatz von Albumin zu einer kristalloiden Präservationslösung zum Einsatz bei Herztransplantationen die kardiale Pumpfunktion nach einer vierstündigen statischen Kaltlagerung und anschließender Reperfusion?

Als Modell zur Untersuchung dieser Fragestellungen wurde das ex vivo perfundierte, isolierte Säugetierherz gewählt.

2 Material und Methoden

Die hier beschriebenen Versuche wurden durchgeführt im Zeitraum von April 2006 bis Juli 2008 am Physiologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München, Lehrstuhl für vegetative Physiologie, Vorstand Prof. Dr. med. Ulrich Pohl und von Juli 2008 bis Januar 2009 im Institut für Vegetative Physiologie und Pathophysiologie am Walter-Brendel-Zentrum für experimentelle Medizin der Ludwig-Maximilians-Universität München, Vorstand Prof. Dr. med. Ulrich Pohl, jeweils in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Bernhard F. Becker.

Die ethisch-rechtliche Unbedenklichkeit der Versuche wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München bestätigt. Die Versuche wurden von der Regierung von Oberbayern als zuständige Genehmigungsbehörde nach §8 Tierschutzgesetz genehmigt (Az. 209.1/211- 2531.3-3/99).

2.1 Substanzen, Gase und Lösungen

Der als Perfusat eingesetzte modifizierte Krebs-Henseleit-Puffer (siehe Tabelle 2.2 auf Seite 22) wurde an jedem Versuchstag frisch hergestellt und bis zu seinem Einsatz bei 7° C kühl gelagert. Die Tyrode-Lösung (siehe Tabelle 2.2 auf Seite 22) und die isotonische Natriumchlorid-Lösung (NaCl 0,9%) wurden bedarfsweise hergestellt und bis zu ihrem Einsatz ebenfalls bei 7° C kühl gelagert. Die zur Herstellung des modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer, der Tyrode-Lösung und der Natrium-Chlorid-Lösung verwendeten Chemikalien wurden von verschiedenen Firmen bezogen (siehe Tabelle 2.1 auf Seite 22).

Die Präservationslösungen Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung nach Brettschneider¹ (HTK) und University-of-Wisconsin-Lösung² (UW) wurden als kommerziell erhält-

¹Custodiol®, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Bensheim, Deutschland

²ViaSpan®, Bristol-Myers Squibb GmbH & Co. KGaA, München, Deutschland

liche Präparationen beschafft und entsprechend den Fach- und Gebrauchsinformationen bei 7° C gelagert. Die Zusammensetzung der Präservationslösungen ist in Tabelle 2.3 auf Seite 23 aufgelistet.

Die eingesetzten Kolloide Humanalbumin³ und Hydroxyethylstärke⁴ (HES 130/0,4) wurden ebenfalls als kommerziell erhältliche Präparationen beschafft und entsprechend den Fach- und Gebrauchsinformationen bei Zimmertemperatur gelagert.

Die Versuchslösung HTK-Albumin wurde vor Versuchsbeginn durch die Zugabe von Albumin zu der HTK-Lösung unter sterilen Bedingungen hergestellt und bis zu ihrem Einsatz bei 7° C gelagert.

2.2 Versuchstiere

Für die Versuche wurden Kurzhaar-Albino-Meerschweinchen beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht zwischen 585 und 1120 Gramm aus der Versuchstierzucht Harlan Winkelmann GmbH in Borcheln, Deutschland verwendet. Die Tiere wurden im Tierstall des Physiologischen Instituts gehalten unter konstanten adäquaten Umgebungsbedingungen und einem zwölfstündigen Tag-Nacht-Rhythmus gemäß den Richtlinien des Tierschutzgesetzes (in der Fassung der Bekanntmachung vom 18.5.2006, Bundesgesetzblatt Teil I S. 1206, 1313). Sie konnten sich vor Versuchsbeginn zwei Wochen eingewöhnen und erhielten eine Standarddiät mit Trockenfutter. Wasser stand ihnen zur freien Verfügung.

2.3 Das ex vivo perfundierte Säugetierherz

Zur Untersuchung der Fragestellungen der vorliegenden Arbeit dienten ex vivo perfundierte Säugetierherzen. Dabei kamen vier unterschiedliche Versuchsanordnungen zum Einsatz. Die erste Versuchsanordnung diente zur Entnahme der Organe aus dem Versuchstier, wobei eine Spülung der Koronarstrombahn mit der jeweiligen Präservationslösung durchgeführt wurde.

³Human-Albumin 20 % Behring®, CSL Behring GmbH, Marburg, Deutschland

⁴Voluvon® 6%, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland

2 Material und Methoden

Tabelle 2.1: Herkunft der verwendeten Chemikalien

Glucose	Merck, Darmstadt, Deutschland
Insulin	Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA
Kaliumhydrogenphosphat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Kalziumchlorid	Merck, Darmstadt, Deutschland
Magnesiumsulfat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumpyruvat	Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Calciumchlorid-Dihydrat	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
Tris-hydroxymethylaminomethan (TRIS)	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

Tabelle 2.2: Zusammensetzung des Perfusats und der Tyrode-Lösung

[mmol/l]	Krebs-Henseleit-Puffer	Tyrode-Lösung
NaCl	116	137
KCl	3,6	2,6
NaHCO ₃	23	-
CaCl ₂	1,2	-
MgSO ₄	0,58	-
KH ₂ PO ₄	1,16	-
Glucose	5,4	5,5
Natriumpyruvat	0,3	-
Insulin	2,8 IE/l	-
MgCl ₂ × 6 H ₂ O	-	1,0
CaCl ₂ × 2 H ₂ O	-	3,0
Tris-Hydroxymethylaminomethan (TRIS)	-	1,0

2 Material und Methoden

Tabelle 2.3: Zusammensetzung der verwendeten Präservationslösungen

[mmol/l]	HTK	UW
Na ⁺	15	30
K ⁺	10	120
Mg ²⁺	4	5
Ca ²⁺	0,015	-
Lactobionat	-	100
Raffinose	-	30
Ketoglutarat	1	-
Tryptophan	2	-
Phosphat-Puffer	-	25
Histidin-Puffer	180	-
Adenosin	-	5
Allopurinol	-	1
Glutathion	-	2
Hydroxyethylstärke	-	50 g
Osmolarität	310	320
pH - Wert	7,2	7,4
HTK=Histidin–Tryptophan–Ketoglutarat–Lösung		
UW=University–of–Wisconsin–Lösung		

Nach einer vierstündigen Ischämieperiode bei 4° C wurden die Reperfusion und Präparation der Organe in einer modifizierten Langendorff-Anordnung vorgenommen [80]. Die Erhebung der funktionellen Parameter erfolgte anschließend je nach Versuchsgruppe in einem linksventrikulär oder rechtsventrikulär arbeitenden Herzmodell.

Die verwendeten Versuchsanordnungen und Versuchsprotokolle werden in den folgenden Abschnitten detailliert beschrieben.

Die Organentnahme und die Präparation wurden zusammen mit Herrn PD Dr. med. Matthias Jacob durchgeführt.

2.3.1 Organentnahme und Ischämieperiode

Bei der Entnahme der Organe aus dem Versuchstier wurde großer Wert darauf gelegt, dem herzchirurgischen Vorgehen bei der Organentnahme zur Herztransplantation so weit wie möglich zu folgen.

Bei der Kontrollgruppe ohne Ischämie wurde die Organentnahme direkt an der Versuchsanlage (modifizierte Langendorff-Anordnung, siehe Abbildung 2.1 auf Seite 28) durchgeführt. Dabei wurden die Herzen unmittelbar nach der Kanülierung der Aorta ascendens mit dem modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer bei 37° C perfundiert.

Bei den Versuchsgruppen mit Ischämie wurde die Organentnahme an einem separaten Arbeitsplatz durchgeführt. Dort war das Behältnis mit der zu untersuchenden Präservationslösung in 100 cm Höhe oberhalb des Präparationsgestells befestigt und über ein Infusionssystem⁵ mit der Aortenkanüle verbunden. In diese Leitung waren der Meßkopf eines Ultraschallflussmessgerätes⁶ und eine Tropfkammer als Luftblasenfalle eingebracht. Für jede Versuchsgruppe wurde ein gesondertes Infusionssystem verwendet.

Die Versuchstiere wurden durch einen Nackenschlag mit einem eigens angefertigten Instrument betäubt und auf das Präparationsgestell gespannt.

Dann erfolgte die Eröffnung der Halsgefäße mit einem Skalpell auf beiden Seiten. Anschließend wurde der Brustkorb freigelegt und die Rippen auf beiden Seiten mit einer Schere durchtrennt.

Unmittelbar nach der Eröffnung des Brustkorbs wurde mit der Spülung der Herzoberfläche mit 7° C kalter isotoner Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) begonnen, um das Herz zu kühlen und zum Stillstand zu bringen. Spätestens fünf Sekunden nach dem Beginn der Spülung zeigte keines der im Rahmen dieser Versuche untersuchten Herzen noch mechanische Aktivität.

Der Herzbeutel wurde mit einer Pinzette eröffnet und so weit wie möglich entfernt. Dann wurde die Aorta ascendens mit einer Pinzette untertunnelt und mit einem Faden unterfahren. Nun konnte die Aorta ascendens eröffnet, die Aortenkanüle in die Aorta eingelegt und mit dem Faden fixiert werden.

⁵Intrafix Primeline Classic/Comfort, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

⁶T106, Transsonic Systems Inc., Ithaca, New York, USA

2 Material und Methoden

Sofort wurde mit der druckkonstanten (100 cm H₂O) Perfusion des Herzens mit der 7° C kalten Versuchslösung begonnen. Es folgte die Durchtrennung der übrigen mit dem Herz in Verbindung stehenden Blutgefäße in einem ausreichenden Abstand zum Herzen. Anschließend konnte das Herz aus dem Thorax entnommen werden. Es wurde sofort in ein Behältnis mit 4° C kalter HTK-Lösung (Gruppen HTK, HTK+Albumin, HTK+HES) oder 4° C kalter UW-Lösung (Gruppe UW) eingetaucht.

Die Herzen wurden mit 8 ml pro Kilogramm Körpergewicht der jeweiligen Versuchslösung gespült, was je nach Flussgeschwindigkeit zwischen drei und viereinhalb Minuten in Anspruch nahm. Anschließend wurde die Aortenkanüle unterhalb der Luftfalle mit einer Klemme dicht verschlossen. Die Behältnisse mit den in der Lösung badenden Herzen wurden dann für eine vierstündige Ischämieperiode in einem Eiswasserbad und einem Kühlraum gelagert, wodurch eine konstante Temperatur von 4° C erreicht und über die gesamte Ischämieperiode beibehalten wurde.

2.3.2 Die modifizierte Langendorff - Anordnung

Während der Reperfusion und der Präparation der arbeitenden Herzmodelle kam das nach dem Rostocker Physiologen Oscar Langendorff (1853-1908) benannte Modell des ex vivo passiv perfundierten Säugetierherzens in der von Döring und Dehnert beschriebenen modifizierten Version zum Einsatz [80, 140].

Bei der modifizierten Langendorff-Anordnung wird das Koronarsystem des aus dem Körper des Versuchstiers entnommenen Herzens an einer Versuchsanlage perfundiert. Das Perfusat strömt dabei aus der Anlage über eine Kanüle in die Aorta ascendens und von dort weiter in das Koronarsystem zur Versorgung des Myokards. Anschließend sammelt sich das Perfusat über den Sinus coronarius im rechten Vorhof und wird vom rechten Ventrikel über die Arteria pulmonalis und eine dort eingebrachte Kanüle ausgeworfen (siehe Abbildung 2.1 auf Seite 28). Die zum Herzen hinführenden Venen Vena cava superior, Vena cava inferior, Vena azygos und die Pulmonalvenen werden ligiert, um die Präparation abzudichten.

Aufgrund des in der Aortenwurzel herrschenden konstanten Druckes auf die Segel der Aortenklappe bleibt diese geschlossen. Der nicht mit Volumen gefüllte linke Ventrikel kontrahiert sich, wirft aber nicht aus und muss keine äußere Herzarbeit verrichten.

2 Material und Methoden

Der bei den hier beschriebenen Versuchen als Perfusat eingesetzte modifizierte Krebs-Henseleit-Puffer wurde in einem beheizten, doppelwandigen Glasgefäß vorgehalten und über eine Gasmischpumpe⁷ mit 94,4% Sauerstoff⁸ und 5,6% Kohlendioxid⁹ begast. Durch den hohen Sauerstoffanteil in dem Gasgemisch konnte ausreichend Sauerstoff physikalisch in dem zellfreien Perfusat gelöst werden, um das Herz auch ohne die Anwesenheit von Sauerstoffträgern im Perfusat ausreichend zu oxygenieren [178].

Der Kohlendioxidanteil dient dazu, um zusammen mit dem im Perfusat vorhandenen Bicarbonat einen pH-Wert von 7,35 bis 7,45 einzustellen.

Der Heizkreislauf wurde mit einer Wärmepumpe¹⁰ betrieben. Die Temperatur des aus der Kanüle in der Pulmonalarterie austretenden Koronareffluates und der Epikardoberfläche wurde mit einem Tip-Thermometer¹¹ gemessen. Der Heizkreislauf wurde so eingestellt, dass dabei eine Zieltemperatur von 37° C erreicht wurde.

Als Leitungen für das Perfusat kamen handelsübliche Infusionsleitungen¹² zum Einsatz. Zentralpunkt der Versuchsanlage war eine Hahnenbank¹³ für die Infusionstherapie mit sieben Luer-Abgängen (je ein Abgang oben und unten und fünf seitliche Abgänge). Das Perfusat wurde durch eine doppelläufige Peristaltikpumpe¹⁴ über einen Pumpenschlauch¹⁵ aus dem Voratsgefäß an den unteren seitlichen Abgang der Hahnenbank transportiert. Unmittelbar vor der Hahnenbank war in diese Leitung eine beheizte Wärmespindel eingebaut, um die auf dem Transportweg auftretenden Wärmeverluste wieder auszugleichen.

Vom oberen Abgang der Hahnenbank führte ein Schlauch nach oben, an dessen Ende das Perfusat austrat und abgeleitet wurde (Überlaufrohr). Die Höhe dieses Schlauchendes über dem Herzen war variabel einstellbar. Bei den in der modifizierten Langendorff-Anordnung durchgeführten Versuchsteilen war das Schlauchende 80 cm über dem

⁷ISA 27/3F, H. Wösthoff oHG, Bochum, Deutschland

⁸Sauerstoff, Linde Gas, Linde AG, Höllriegelskreuth/Pullach, Deutschland

⁹Kohlendioxid, Linde Gas, Linde AG, Höllriegelskreuth/Pullach, Deutschland

¹⁰Typ Eg 725, H. Wösthoff Messtechnik GmbH, Bochum, Deutschland

¹¹Metratat P60, GMC-I Gossen-Metrawatt GmbH, Nürnberg, Deutschland

¹²Heidelberger Verlängerungen, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland oder Verbindungsleitung P, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland oder Infusionssystem Intrafix Primeline Classic/Comfort, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

¹³Discofix, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

¹⁴Ismatec ISM830, Ismatec SA Labortechnik-Analytik, Glattbrugg, Schweiz

¹⁵Silicone ID 1,65 mm, Ismatec SA Labortechnik-Analytik, Glattbrugg, Schweiz

2 Material und Methoden

Herzen befestigt, so dass über die im Schlauch befindliche Perfusatsäule ein Perfusionsdruck von 80 cm H₂O am Koronarsystem anlag (druckkonstante Perfusion).

Am unteren Abgang der Hahnenbank konnte die Tropfkammer mit dem an der Aortankanüle befestigten Herzen angebracht werden, wobei die Tropfkammer auch an dieser Stelle als Luftfalle diente. Zwischen Tropfkammer und Hahnenbank war der Meßkopf eines Ultraschallflussmessgerätes¹⁶ eingebaut.

Nach dem Anbringen der Tropfkammer mit den Herzen an der Versuchsanlage wurde die Klemme zwischen Tropfkammer und Herz geöffnet und die Reperfusion gestartet. Nachdem während der ersten Minuten die aus dem Herzen austretende Flüssigkeit für spätere Untersuchungen gesammelt wurde, folgte nun die weitere Präparation der Herzen. Dabei ist es im Langendorf-Modell wie oben beschrieben vorgesehen, die zum Herz hinführenden Gefäße Vena cava superior, Vena cava inferior, Vena azygos und die Pulmonalvenen aufzusuchen und zu ligieren. Bei den hier beschriebenen Versuchen wurde davon wie in den folgenden Abschnitten detailliert beschrieben abgewichen, um die Voraussetzungen für den im weiteren Versuchsverlauf geplanten Wechsel auf ein arbeitendes Herzmodell zu schaffen.

Den Abschluss der Präparation bildete in jedem Fall die Kanülierung der A. pulmonalis. Um eine Verletzung der Pulmonalklappe durch die Kanüle zu vermeiden, wurde dabei der Pulmonalisstumpf von unten über die fixierte Kanüle gezogen und dort befestigt. Die aus der Pulmonalkanüle austretende Flüssigkeit wurde über eine Leitung abgeleitet, in die zur Messung des Pulmonalisflusses ebenfalls ein Meßkopf eines Ultraschallflussmessgerätes¹⁷ eingebracht worden war.

Während der Reperfusion und Wiedererwärmung begannen die meisten Herzen wieder damit, sich zu kontrahieren und schlugen bald im Sinusrhythmus. Eine elektrische oder pharmakologische Stimulation erfolgte nicht.

Nach der Präparation wurden die Flüsse in der Aorta und der A. pulmonalis verglichen. Wenn die Flussdifferenz trotz aller Bemühungen zur Optimierung der Präparation dauerhaft mehr als 2 ml pro Minute betrug, wurden die Herzen aufgrund der Leckage von den weiteren Versuchen ausgeschlossen.

¹⁶T106, Transsonic Systems Inc., Ithaca, New York, USA

¹⁷TS 410, Transsonic Systems Inc., Ithaca, New York, USA

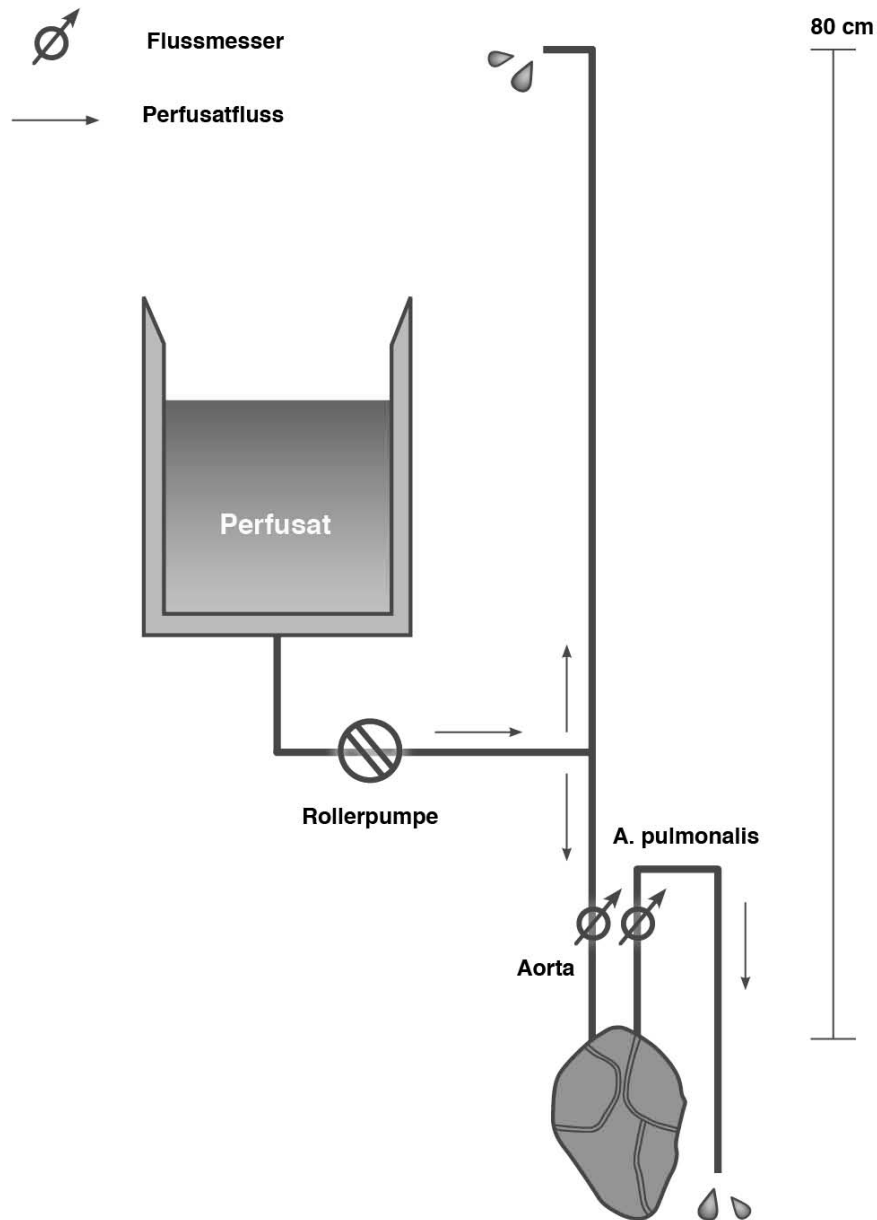


Abbildung 2.1: Die modifizierte Langendorff-Anordnung

2.3.3 Das ex vivo perfundierte, linksventrikulär arbeitende Herz

Für das Modell des ex vivo perfundierten, linksventrikulär arbeitenden Herzens wurde während der Präparation eine zusätzliche Kanüle über die Pulmonalvenen in den linken Vorhof eingebracht und dort fixiert (siehe Abbildung 2.2 auf Seite 31). Anschließend wurden die übrigen zum Herzen führenden Gefäße aufgesucht und ligiert.

Die für dieses Modell genutzte Versuchsanlage war wie die oben beschriebene Anlage für das modifizierte Langendoff-Modell aufgebaut. Zusätzlich wurde ein Dreiwegehahn¹⁸ zwischen Wärmespindel und Hahnenbank eingebaut. Durch die beiden sich gegenüberliegenden Anschlüsse dieses Dreiwegehahns konnte das Perfusat von der Wärmespindel zur Hahnenbank fließen.

Von dem nach unten gerichteten dritten Abgang führte eine Perfusatsleitung zu einem weiteren Dreiwegehahn¹⁹. Dieser verteilte das Perfusat auf weitere zwei Perfusatsleitungen. Die eine endete frei, so dass das Perfusat hier austreten konnte. Die Höhe des Endes dieser Leitung über dem Herzen konnte variabel festgelegt werden. Dadurch konnte mit der in dieser Leitung befindlichen Perfusatsäule die am linken Herzen anliegende Vorlast eingestellt werden. Durch die andere Leitung floss das Perfusat über einen Meßkopf eines Ultraschallflussmessgerätes²⁰ und eine als Luftblasenfalle dienende Tropfkammer zu der Kanüle im linken Vorhof.

An dem mittleren der seitlichen Abgänge der Hahnenbank war ein mit einer Klemme verschlossener luftgefüllter Schlauch befestigt (Windkessel).

Während der Reperfusion war der zwischen Wärmespindel und Hahnenbank liegende Dreiwegehahn so gestellt, dass die Leitung zu der in den linken Vorhof eingebrachten Kanüle verschlossen war. Daher floss das Perfusat wie oben beim modifizierten Langendorf-Modell beschrieben von der Wärmespindel in die Hahnenbank und weiter in die Aortenkanüle. Zum Umschalten auf das linksventrikulär arbeitende Modell wurde dieser Dreiwegehahn so umgestellt, dass die Leitungsbahn zur Hahnenbank und Aortenkanüle verschlossen war und das Perfusat Richtung Vorhofkanüle floss.

Ab diesem Zeitpunkt erfolgte der Perfusatfluss zum linken Herzen nicht mehr retrograd über die Aorta, sondern auf dem natürlichen Weg in den linken Vorhof.

Die Herzen wurden nun nicht mehr passiv perfundiert, sondern mussten jetzt das sich

¹⁸Discofix C, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

¹⁹Discofix C, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

²⁰TS 410, Transsonic Systems Inc., Ithaca, New York, USA

im linken Ventrikel sammelnde Perfusat aktiv über die Aortenklappe gegen die Nachlast auswerfen und so Druck-Volumen-Arbeit verrichten.

In dem Abschnitt der Versuchsanlage zwischen der Aortenkanüle und der Hahnenbank kam es zu einer Umkehr der Fließrichtung. Der Teil der Versuchsanlage aus der Hahnenbank und den beiden oben und unten an dieser befestigten Perfusatleitungen, der bisher in der modifizierten Langendorff-Anordnung zur Aufrechterhaltung der Perfusatsäule für die Koronarperfusion genutzt wurde, stellte nun die Auswurfbahn des linken Ventrikels dar.

Über die Position des Überlaufrohrs oberhalb des Herzens konnte die Höhe der Perfusatsäule und damit die Nachlast des linken Ventrikels frei eingestellt werden.

Durch das Umlegen des betreffenden Dreiwegehahns wurde der an der Hahnenbank angebrachte luftgefüllte Schlauch in die Auswurfbahn des Herzens geschaltet und diente als Ersatz für die in der Versuchsanlage fehlende Elastizität der Blutgefäße (Windkessel-effekt).

2.3.4 Das ex vivo perfundierte, rechtsventrikulär arbeitende Herz

Da das Modell des ex vivo perfundierten, rechtsventrikulär arbeitenden Herzens in unserem Labor zuvor noch nicht zum Einsatz gekommen war, wurde diese Methode im Rahmen der vorliegenden Arbeit neu etabliert.

Für diese Versuchsanordnung wurde während der Präparation eine zusätzliche Kanüle in die Vena cava superior eingebracht und dort fixiert (siehe Abbildung 2.3 auf Seite 33). Die übrigen zum Herzen führenden Gefäße wurden wie oben beschrieben aufgesucht und ligiert.

Bei diesem Versuchsaufbau kam eine Anlage mit zwei voneinander getrennten Teilen zum Einsatz. Der eine Teil war als modifiziertes Langendorff-Modell aufgebaut und diente dazu, das Koronarsystem über die gesamte Versuchsdauer im Langendorff-Modus druckkontrolliert passiv zu perfundieren (Perfusionsdruck 80 cm H₂O).

Aufgabe des zweiten Teils der Anlage war es, dem rechten Herzen eine bestimmte Vorlast unabhängig vom Koronarfluss vorzugeben. Da dieser Teil nicht an der Koronarversorgung des Herzen beteiligt war, wurde hier isotone Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) verwendet und auf eine Begasung verzichtet.

2 Material und Methoden

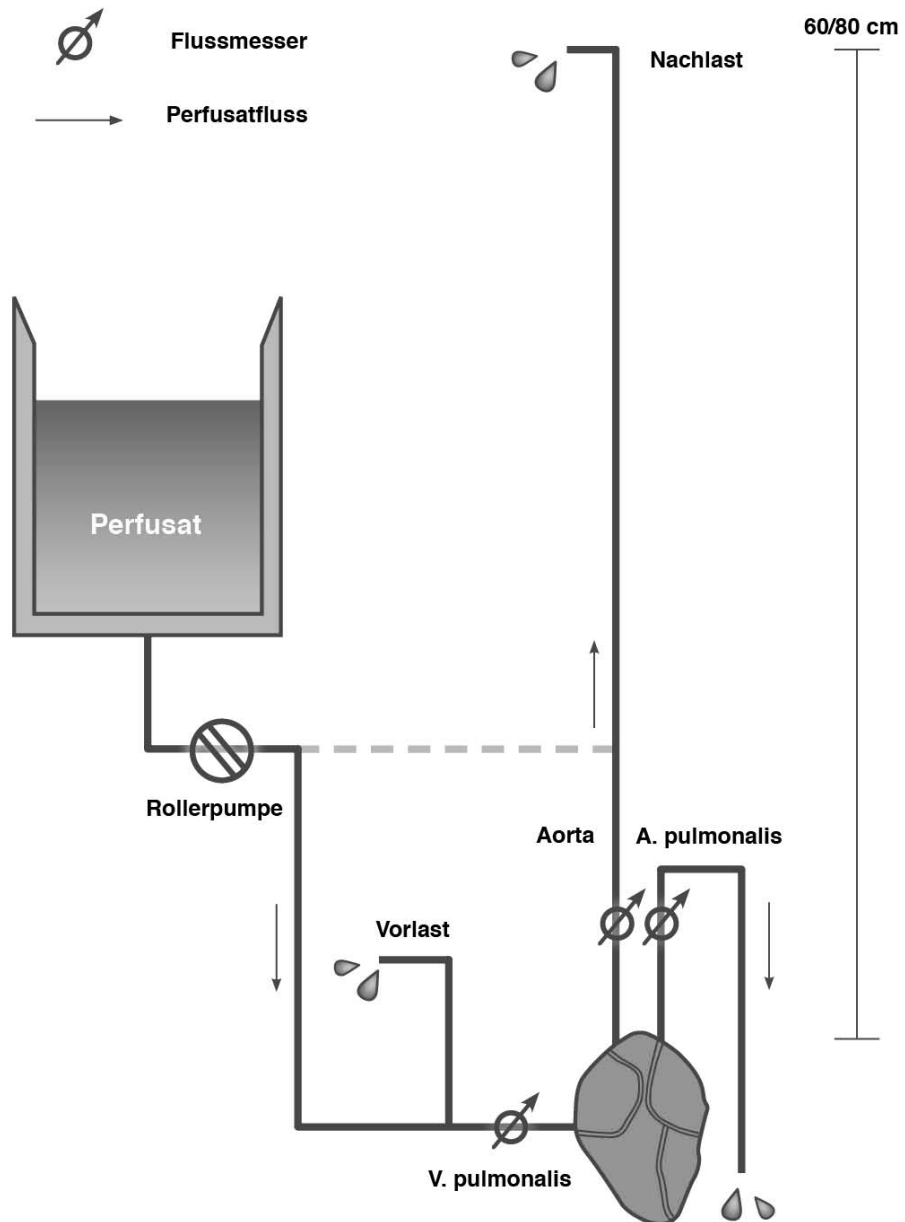


Abbildung 2.2: Versuchsanordnung linksventrikulär arbeitendes Herz

2 Material und Methoden

Die isotone Kochsalzlösung wurde in einem zweiten doppelwandigen Perfusatbehältnis aufbewahrt, das über den Heizkreislauf beheizt wurde. Durch den zweiten Lauf der doppeläufigen Peristaltikpumpe²¹ wurde sie aus dem Perfusatbehältnis über eine Wärmespindel zu einem Dreiwegehahn²² transportiert.

Aus einem von dem zweiten, der zuführenden Leitung entgegengesetzten Anschluss abgehenden Schlauch konnte das Perfusat frei austreten und wurde aufgefangen. Durch die Höhe des Schlauchendes über dem Herzen konnte die Vorlast des rechten Herzens frei gewählt werden.

Der dritte, nach unten weisende Anschluss des Dreiwegehahns führte über eine als Luftfalle dienende Tropfkammer zu der in der Vena cava superior befestigten Kanüle. In diese Leitung war der Meßkopf eines Ultraschallflussmessgerät²³ eingebracht.

Während der Präparation und der Wärmungsphase war dieser Weg verschlossen und die Kochsalzlösung strömte vom Perfusatbehältnis über den Dreiwegehahn direkt in den Überlauf. Mit Beginn der Arbeitsphase wurde der Dreiwegehahn in die Stellung „Alle Anschlüsse offen“ umgelegt. Nun floss ein Teil der Kochsalzlösung über die Kanüle in der Vena cava superior in den rechten Vorhof und weiter in die rechte Herzkammer.

Wenn das Herzzeitvolumen den Koronarfluss überstieg, dann erhielt das Herz Volumen aus der Vena-cava-Kanüle. Gleichzeitig konnte aber auch Koronareffluat über die Kanüle in der Vena cava superior in Richtung Überlauf abfließen, wenn der Koronarfluss bei geringer Auswurfleistung des rechten Herzen das rechtsventrikuläre Herzzeitvolumen überstieg.

2.4 Versuchsprotokoll

Der Ablauf der Versuche folgte einem exakten Versuchsprotokoll (siehe Abbildung 2.4 auf Seite 35), das minutiös eingehalten wurde.

Der Moment, an dem bei der Organentnahme die Klemme auf den Zufluss zur Aortenkanüle gesetzt wurde, war als Zeitpunkt -240 Minuten definiert. Nach vier Stunden kalter Ischämie begann die Reperfusion bei Minute 0.

Während der ersten drei Minuten der Reperfusion wurde die gesamte aus dem Her-

²¹Ismatec ISM830, Ismatec SA Labortechnik-Analytik, Glattberg-Zürich, Schweiz

²²Discofix C, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

²³T106, Transsonic Systems Inc., Ithaca, New York, USA

2 Material und Methoden

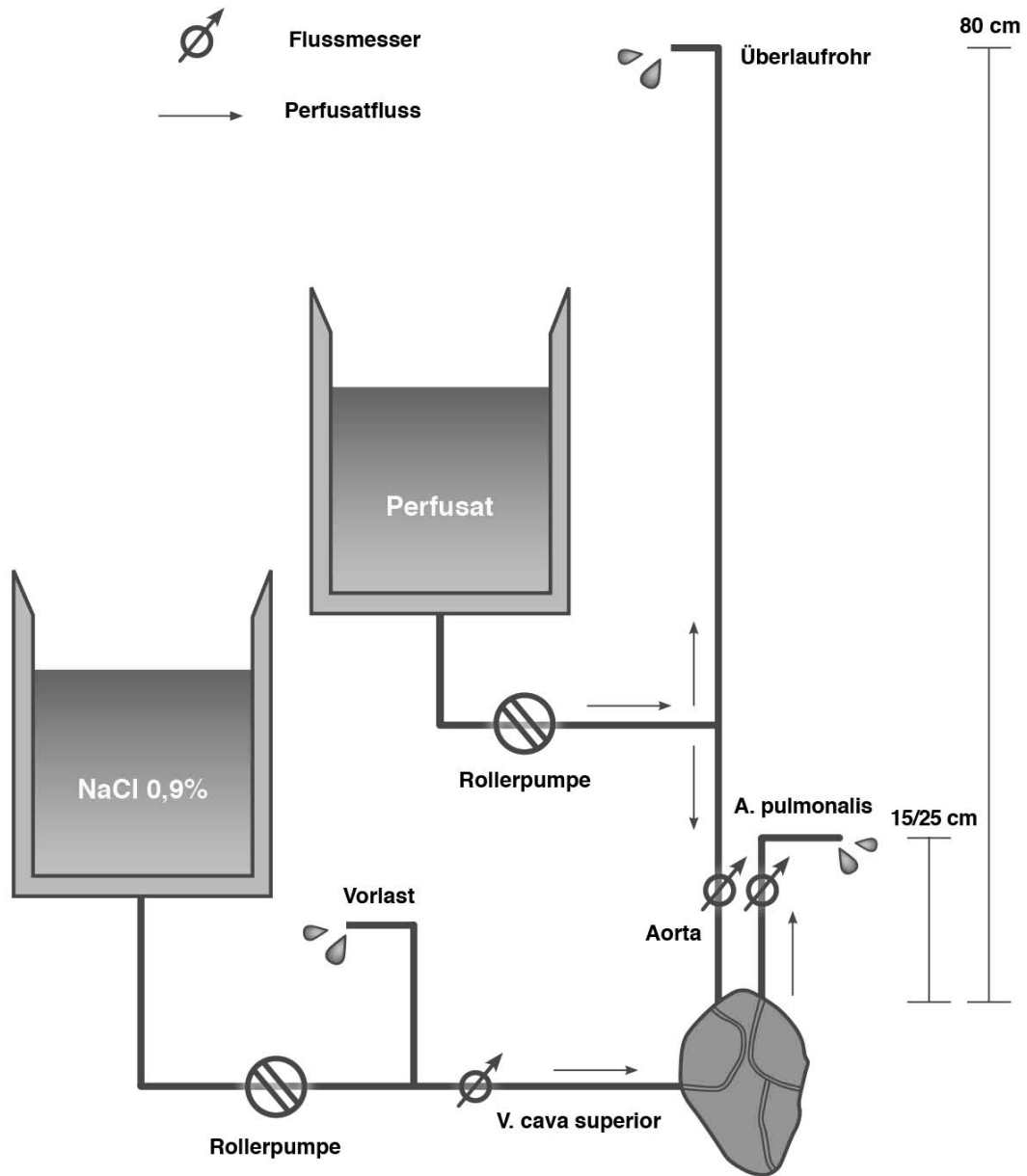


Abbildung 2.3: Versuchsanordnung rechtsventrikulär arbeitendes Herz

2 Material und Methoden

zen austretende Flüssigkeit gesammelt und anschließend in einem dicht verschlossenen Probengefäß bei -27°C gelagert (Probenentnahme „frühe Reperfusion“).

Dann erfolgte die Präparation des entsprechenden arbeitenden Herzmodells.

Während der Minuten 17 bis 20 nach Beginn der Reperfusion wurde das aus der Kanüle in der Pulmonalarterie austretende Koronareffluat und das sich an der Herzspitze sammelnde Transsudat aufgefangen und dann ebenfalls in dicht verschlossenen Probengefäßen bei -27°C gelagert (Probenentnahme „späte Reperfusion“).

Anschließend blieben die Herzen zehn Minuten im Langendorff-Modus, um ihnen die Wiedererwärmung und eine Äquilibration an die Versuchsbedingungen zu ermöglichen. In Minute 30 erfolgte der Wechsel in den arbeitenden Modus, je nach Versuchsgruppe als arbeitendes linkes Herz oder arbeitendes rechtes Herz.

Dabei wurde zuerst eine geringe Nachlast angelegt (arbeitendes linkes Herz: 60 cm H_2O , arbeitendes rechtes Herz: 15 cm H_2O).

Nachdem die Herzen sich zehn Minuten lang an die veränderten Bedingungen anpassen konnten, erfolgte die Messung des Herzzeitvolumens unter diesen Bedingungen in drei aufeinanderfolgenden Messungen. Anschließend wurde in Minute 43 die Nachlast erhöht (arbeitendes linkes Herz: 80 cm H_2O , arbeitendes rechtes Herz: 25 cm H_2O). Nach weiteren fünf Minuten wurde ab Minute 48 erneut das Herzzeitvolumen bei der jetzt erhöhten Nachlast bestimmt.

Ab Minute 51 erfolgte die Bestimmung der maximalen Druckentwicklung wie in Abschnitt 2.7.4 auf Seite 38 beschrieben. Anschließend wurde der Versuch beendet.

2.5 Versuchsgruppen

Es wurden insgesamt neun unterschiedliche Versuchsgruppen mit jeweils fünf Organen pro Gruppe untersucht (siehe Tabelle 2.4 auf Seite 37). Mit dem linksventrikulär arbeitenden Herzmodell wurden Versuche mit einer Kontrollgruppe ohne Ischämie (Gruppe Kontrolle) und drei Versuchsgruppen mit vierstündiger kalter Ischämie nach einer Spülung der Koronarien mit HTK-Lösung (Gruppe HTK), HTK mit 1 % Albuminzusatz (Gruppe HTK+Albumin) oder University-of-Wisconsin-Lösung (Gruppe UW) durchgeführt. Mit dem rechtsventrikulär arbeitenden Herzmodell wurde zusätzlich noch eine weitere Versuchsgruppe mit vierstündiger kalter Ischämie nach einer Spülung mit HTK-Lösung mit 1% Hydroxyethylstärke (Gruppe HTK+HES) untersucht.

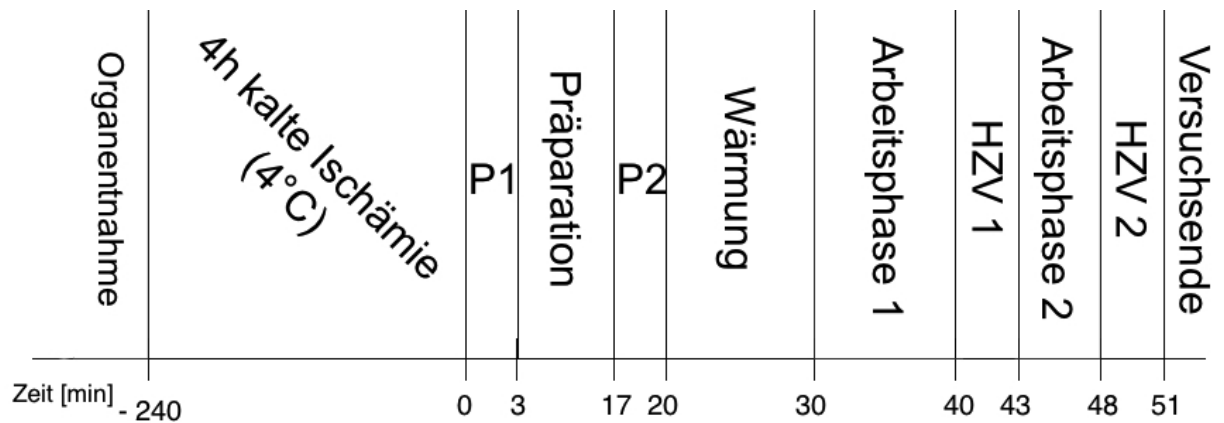


Abbildung 2.4: Versuchsprotokoll (P1: Probenentnahme „frühe Reperfusion“, P2: Probenentnahme „späte Reperfusion“, HZV: Bestimmung des Herzzeitvolumens)

2.6 Ausschlusskriterien

Es wurden vor Beginn der Versuchsreihen Ausschlusskriterien festgelegt, bei deren Eintreten das betroffene Organ aus der Wertung genommen wurde (siehe Tabelle 2.5 auf Seite 37).

2.7 Analytik

2.7.1 Lebend- und Herzgewicht, Ödembildung

Bei jedem Versuchstier wurde das Lebendgewicht mit einer Tierwaage bestimmt. Nach Versuchsende wurden bei den Herzen die Vorhöfe und die Klappenebene sorgfältig mit einer Schere entfernt. Dann wurden die Ventrikel eröffnet und das darin befindliche Perfusat entleert. Dabei erfolgte eine Sichtkontrolle des Ventrikels auf Koagel. Danach wurde mit einer Präzisionswaage das Feuchtgewicht der Ventrikelmuskulatur (wet weighth, WW) ermittelt. Anschließend wurden die Herzen für mindestens 24 Stunden in einem Wärmeschrank bei 60° C gelagert und dann das Trockengewicht der Ventrikelmuskulatur (dry weighth, DW) bestimmt.

2 Material und Methoden

Zur Bestimmung des Ödems der Ventrikelmuskulatur erfolgte die Berechnung des Quotienten Feuchtgewicht durch Trockengewicht mit der unten stehenden Formel.

$$\text{Ödem} = \frac{\text{Feuchtgewicht } WW}{\text{Trockengewicht } DW}$$

2.7.2 Bestimmung des Herzzeitvolumens

Zur Bestimmung des Herzzeitvolumens wurde die von den Herzen innerhalb einer Minute ausgeworfene Flüssigkeit in nummerierten Probengefäßen aufgefangen, deren Leergewicht vor Versuchsbeginn mit einer Präzisionswaage bestimmt wurde.

Bei den Versuchen im Modell arbeitendes linkes Herz floss ein Teil des vom linken Ventrikel ausgeworfenen Perfusats über die Hahnenbank und die Perfusatleitung zum Überlauf der Aortenstrombahn und ein anderer Teil über das Koronarsystem des Herzens und den Sinus coronarius in den rechten Vorhof, bevor es vom rechten Ventrikel über die in der Arteria pulmonalis eingebrachte Kanüle ausgeworfen wurde. Bei diesen Versuchen wurde das am Überlauf der Aortenstrombahn und das an der Kanüle in der Pulmonalarterie austretende Perfusat mit zwei Probengefäßen gesammelt.

Bei den Versuchen im Modell arbeitendes rechtes Herz stellte die an der Kanüle in der Pulmonalarterie austretende Flüssigkeit das Herzzeitvolumen des rechten Herzens dar und wurde in einem Probengefäß gesammelt. Die gefüllten Probengefäße wurden verschlossen, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch Verdunstung auszuschließen. Um eine Verfälschung der Ergebnisse durch kurzfristige Schwankungen in der Herzleistung zu reduzieren, wurden für jeden Messzeitpunkt jeweils drei Einzelmessungen durchgeführt und anschließend ein Mittelwert bestimmt.

Nach dem Versuchsende wurde bei jedem Probengefäß das Gewicht im gefüllten Zustand mit derselben Präzisionswaage bestimmt. Zur Errechnung des Gefäßinhaltes wurde von diesem Vollgewicht das Leergewicht des Gefäßes abgezogen (Taragewicht).

Für die Umrechnung von dem so bestimmten Gewicht auf das Volumen der gesammelten Flüssigkeit wurde vereinfachend angenommen, dass das Perfusat eine Dichte gleich der von Wasser hat (1 Liter entspricht 1 Kilogramm).

Um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erhöhen, wurde das durchschnittliche Herzzeitvolumen auf das Trockengewicht der Herzen bezogen angegeben ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g DW}^{-1}$).

2 Material und Methoden

Tabelle 2.4: Versuchsgruppen

	Versuche ohne Ischämie	Versuche mit Ischämie
Linksventrikulär arbeitendes Herz:	Kontrolle	HTK HTK+Albumin UW
Rechtsventrikulär arbeitendes Herz:	Kontrolle	HTK HTK+Albumin HTK+HES UW

HTK=Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung, UW=University-of-Wisconsin-Lösung
HES=Hydroxyethylstärke

Tabelle 2.5: Ausschlusskriterien

Undichtigkeit
Verletzung einer relevanten Struktur (z.B. Herzklappe)
Luftembolie
Bakterielle Kontamination
Fehler in der Versuchsanlage
Fehlbedienung der Versuchsanlage
Nichtperfusion einer Koronararterie während der Organentnahme
Koagel im Ventrikel

2.7.3 Druck-Volumen-Arbeit

Die von den Herzen geleistete Druck-Volumen-Arbeit entspricht annäherungsweise dem Produkt aus dem Herzminutenvolumen (MV) und der Nachlast (P) [129].

$$\text{Druck} - \text{Volumen} - \text{Arbeit} = P \cdot MV$$

2.7.4 Maximale Druckentwicklung

Den Abschluss eines Versuches am arbeitenden Herzen bildete die Ermittlung der durch das Herz maximal zu erbringenden Druckentwicklung.

Dazu wurde im Modell „arbeitendes linkes Herz“ der Überlauf in zwei Meter Höhe über dem Herz angebracht und die maximale Höhe der Perfusatsäule in der Auswurfbahn gemessen, die von dem Herzen stabil gehalten werden konnte.

Beim Modell „arbeitendes rechtes Herz“ erfolgte die Messung mit einem Druckmesser²⁴. Dieser wurde über den Druckschlauch eines handelsüblichen Sets zur arteriellen Blutdruckmessung²⁵ und einen Dreivegehahn²⁶ mit der Kanüle in der Pulmonalarterie verbunden. Zur Digitalisierung der Daten wurde ein Messverstärker²⁷ und ein Datenerfassungssystem²⁸ verwendet. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm PowerLab Chart 5²⁹ auf einem PowerMac G4³⁰. Vor Versuchsbeginn wurde eine Eichung des Druckmessers mittels einer Wassersäule durchgeführt.

2.7.5 Nachweis von Gykokalyxbestandteilen

Die Konzentration des Proteoglycans Syndecan-1 in den während der frühen und der späten Reperfusion gewonnenen Proben sollte mit einem Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) bestimmt werden, das zwei Antikörper gegen unterschiedliche Syndecan-1-Epitope verwendet³¹.

²⁴Modell 1050BP, UFI, Morro Bay, Ca., USA

²⁵DTXPlus™, Argon Critical Care Systems Singapore Pte. Ltd., Singapur

²⁶Discofix C, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

²⁷Bridge Amp ML 110, AD Instruments Pty Ltd., Bella Vista NSW, Australien

²⁸PowerLab 4/20 ML840, AD Instruments Pty Ltd., Bella Vista NSW, Australien

²⁹PowerLab Chart 5 v.5.0.1, AD Instruments Pty Ltd., Bella Vista NSW, Australien

³⁰Apple Inc., 1 Infinite Loop, Cupertino, CA, USA

³¹Diaclone Research, Besancon, France

2 Material und Methoden

Zur Bestimmung des Gehalts an Heparansulfat-Glykosaminoglykanen wurden die Proben zuerst mit einem Ultrafilter³² (10 kDa-Cutoff) konzentriert. Anschließend sollte die Messung mit einem Enzyme-linked Immunosorbent Assay³³ durchgeführt werden, das mit zwei Antikörpern gegen unterschiedliche Heparansulfat-Epitope arbeitet. Das Prinzip des Enzyme-linked Immunosorbent Assay ist an anderer Stelle ausführlich beschrieben [41].

Diese Messungen wurden im Forschungslabor Großhadern der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München von den dortigen Mitarbeiterinnen durchgeführt.

2.7.6 Nachweis von Metaboliten

Zur Beurteilung der Schwere eines ischämischen Insultes kann die kardiale Produktion von Laktat, Purinen sowie Harnsäure dienen.

Laktat ist bekanntlich das Endprodukt der anaeroben Glykolyse. Purine wie Adenosin, Inosin, Hypoxanthin und Xanthin entstehen beim Katabolismus von energiereichen Adenin- und Guaninphosphaten. Die Harnsäure als Endprodukt des Purinkatabolismus wirkt gleichzeitig als endogenes Antioxidans [21, 18].

Die Konzentrationen dieser Metabolite in den während der frühen und der späten Reperusionsphase gewonnen Proben wurden mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ermittelt. Diese Methodik ist ausführlich in früheren Arbeiten unserer Arbeitsgruppe beschrieben [21, 171].

Diese Messungen wurden im Labor unserer Arbeitsgruppe von Frau Dora Kiesel durchgeführt.

2.7.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit dem Programm IBM® SPSS® Statistics³⁴. Zur Ermittlung der Unterschiede zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen wurde entweder eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA), ein T-Test bei unabhängigen Stichproben oder ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt.

³²Millipore, Billerica, MA, USA

³³Seikagaku Corporation, Tokyo, Japan

³⁴IBM® SPSS® Statistics Version 22, IBM Deutschland GmbH, IBM-Allee 1, Ehningen, Deutschland

3 Ergebnisse

3.1 Lebendgewicht, Herzgewicht und Ödembildung

Bei dem Lebendgewicht der Tiere bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen¹. Das Trockengewicht der Herzen war in der Gruppe HTK+HES signifikant größer als in den Gruppen HTK und UW². Um den Einfluss der Unterschiede in der Myokardmasse auf die Ergebnisse der funktionellen Untersuchungen und die freigesetzten Stoffmengen auszugleichen, werden diese im Folgenden auf das Trockengewicht der Herzen bezogen angegeben.

Für das Verhältnis Herzfeuchtgewicht zu Herztrockengewicht als Ausdruck der myokardialen Ödembildung zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen³.

Die einzelnen Ergebnisse werden in Tabelle 3.1 auf Seite 41 zusammengefasst.

3.2 Koronarfluss

Für den auf das Herztrockengewicht bezogenen Koronarfluss in der ersten Minute nach Beginn der Reperfusion ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen⁴ (siehe Tabelle 3.2 auf Seite 41). Bei keinem der untersuchten Herzen trat ein sehr niedriger Koronarfluss am Beginn der Reperfusion auf („no-reflow-Phänomen“).

¹einfaktorieller ANOVA, df=4, F=2,08, P=0,101

²einfaktorieller ANOVA, df=4, F=3,66, P=0,012

³einfaktorieller ANOVA, df=4, F=2,74, P=0,042

⁴einfaktorieller ANOVA, df=3, F=0,71, P=0,554

3 Ergebnisse

Tabelle 3.1: Lebendgewicht, Herzgewicht und Ödembildung

Gruppe	n	Lebendgewicht [g]	Herzgewicht trocken [g]	Ödembildung
Kontrolle	10	814±189	0,32±0,1	8,16±0,8
HTK	10	721±174	0,30±0,1 [#]	8,70±0,5
HTK+Albumin	10	821±131	0,32±0	8,34±0,5
HTK+HES	5	906±62	0,37±0	9,05±0,6
UW	10	733±40	0,29±0	8,31±0,5

Jeweils Mittelwert ± SD, [#]=P<0,012 vs. HTK+HES und UW
HTK=Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung, UW=University-of-Wisconsin-Lösung, HES=Hydroxyethylstärke

Tabelle 3.2: Koronarfluss in der Reperfusionsphase (Minute 1)

Gruppe	n	Koronarfluss [ml · min ⁻¹ · g DW ⁻¹]
HTK	10	75,7±25
HTK+Albumin	10	85,5±18
HTK+HES	5	64,7±28
UW	10	66,4±38

Jeweils Mittelwert ± SD, DW=Trockengewicht, HTK=Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung, UW=University-of-Wisconsin-Lösung, HES=Hydroxyethylstärke

3.3 Kardiale Pumpleistung

Bei den Versuchen im Modell linksventrikulär arbeitendes Herz zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen bezüglich des Herzzeitvolumens⁵ oder der geleisteten Druck-Volumen-Arbeit⁶ bei einer Nachlast von 60 cm H₂O (siehe Tabelle 3.3 auf Seite 43 und Abbildung 3.1 auf Seite 45). Auch für das maximal erreichte Druckniveau ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen⁷. Überraschenderweise konnten die Herzen also unter dem Schutz der verwendeten Präservationslösungen auch nach einer vierstündigen kalten Ischämie und Reperfusion die gleiche Herzarbeit leisten wie die Herzen der Kontrollgruppe, die keiner Ischämie ausgesetzt waren.

In jeder Gruppe konnte nur ein Teil der Herzen gegen die erhöhte Nachlast von 80 cm H₂O auswerfen. Aufgrund der geringen Anzahl an verwertbaren Ergebnissen war eine statistische Auswertung dieser Daten nicht möglich (siehe Tabelle 3.3 auf Seite 43).

Bei den Versuchen im Modell rechtsventrikulär arbeitendes Herz war in den Gruppen HTK und HTK+HES das nach vierstündiger kalter Ischämie und Reperfusion gegen eine Nachlast von 15 cm H₂O erreichte durchschnittliche Herzzeitvolumen⁸ und die geleistete Druck-Volumen-Arbeit⁹ signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. In den Gruppen HTK+Albumin und UW bestand dagegen kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe (siehe Tabelle 3.4 auf Seite 44 und Abbildung 3.2 auf Seite 45).

Bei einer Nachlast von 25 cm H₂O erreichte die Gruppe UW signifikant weniger Herzzeitvolumen und Druck-Volumen-Arbeit als die Kontrollgruppe¹⁰. In den Gruppen HTK, HTK+Albumin und HTK+HES konnte jeweils nur ein Teil der Herzen gegen die erhöhte Nachlast auswerfen, so dass auch hier eine statistische Auswertung dieser Daten aufgrund der geringen Anzahl an Ergebnissen nicht möglich war.

Das maximal erreichte rechtsventrikuläre Druckniveau war in den Gruppen HTK, HTK+Albumin und HTK+HES signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe¹¹.

⁵einfaktorieller ANOVA, df=3, F=2,97, P=0,063

⁶einfaktorieller ANOVA, df=3, F=2,97, P=0,063

⁷einfaktorieller ANOVA, df=3, F=0,22, P=0,881

⁸einfaktorieller ANOVA, df=4, F=19,71, P<0,001

⁹einfaktorieller ANOVA, df=4, F=19,71, P<0,001

¹⁰T-Test bei unabhängigen Stichproben, P<0,001

¹¹einfaktorieller ANOVA, df=4, F=5,45, P=0,004

3 Ergebnisse

Tabelle 3.3: Funktionelle Daten linksventrikulär arbeitender Herzen

Gruppe	n	Herzzeitvolumen [ml·min ⁻¹ ·g DW ⁻¹]	Druck-Volumen- Arbeit [L·cm H ₂ O·min ⁻¹ ·g DW ⁻¹]	Maximale Druck- entwicklung [cm H ₂ O]
Nachlast 60 cm H ₂ O				
Kontrolle	5	48,2±6,3	2,9±0,4	
HTK	5	56,2±23,0	3,4±1,3	
HTK+Albumin	5	57,4±14,2	3,4±0,9	
UW	5	86,6±33,5	5,2±2,0	
Nachlast 80 cm H ₂ O				
Kontrolle	2	49,8±0,9	4,0±0,1	
HTK	1	91,9	7,3	
HTK+Albumin	2	44,1±6,1	3,6±0,5	
UW	3	90,1±25,7	7,2±2,0	
Maximale Druckentwicklung				
Kontrolle	5			76,2±11,0
HTK	5			71,8±7,6
HTK+Albumin	5			73,6±6,1
UW	5			74±8,9

Jeweils Mittelwert ± SD, Vorlast 10 cm H₂O, DW=Trockengewicht, HTK=Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung, UW=University-of-Wisconsin-Lösung

3 Ergebnisse

Tabelle 3.4: Funktionelle Daten rechtsventrikulär arbeitender Herzen

Gruppe	n	Herzzeitvolumen [ml·min ⁻¹ ·g DW ⁻¹]	Druck-Volumen- Arbeit [L·cm H ₂ O·min ⁻¹ ·g DW ⁻¹]	Maximale Druck- entwicklung [cm H ₂ O]
Nachlast 15 cm H ₂ O				
Kontrolle	5	116±24	1,7±0,4	
HTK	5	50±11*	0,7±0,2*	
HTK+Albumin	5	94±14	1,4±0,2	
HTK+HES	5	57±16*	0,9±0,2*	
UW	5	123±16	1,8±0,2	
Nachlast 25 cm H ₂ O				
Kontrolle	5	76,9±5	1,9±0,1	
HTK	2	32,0±33	0,8±0,8	
HTK+Albumin	3	18,3±16	0,5±0,4	
HTK+HES	0	-	-	
UW	5	30,8±17 [#]	0,8±0,4 [#]	
Maximale Druckentwicklung				
Kontrolle	5			39,0±3,7
HTK	5			28,4±8,9 [‡]
HTK+Albumin	5			27,0±4,6 [‡]
HTK+HES	5			25,0±2,0 [‡]
UW	5			30,0±4,2

Jeweils Mittelwert ± SD, *=P<0,001 vs. Kontrolle, HTK+Albumin und UW,

[#]=P<0,001 vs. Kontrollgruppe, [‡]=P=0,004 vs. Kontrolle,

Vorlast 10 cm H₂O, DW=Trockengewicht, HTK=Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung, UW=University-of-Wisconsin-Lösung, HES=Hydroxyethylstärke

3 Ergebnisse

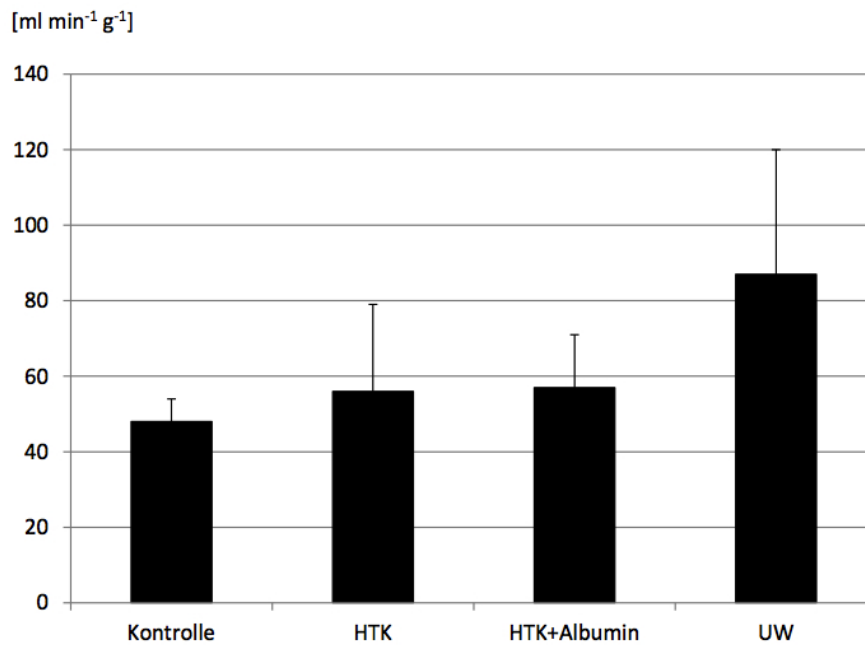


Abbildung 3.1: Herzzeitvolumen linksventrikulär arbeitender Herzen

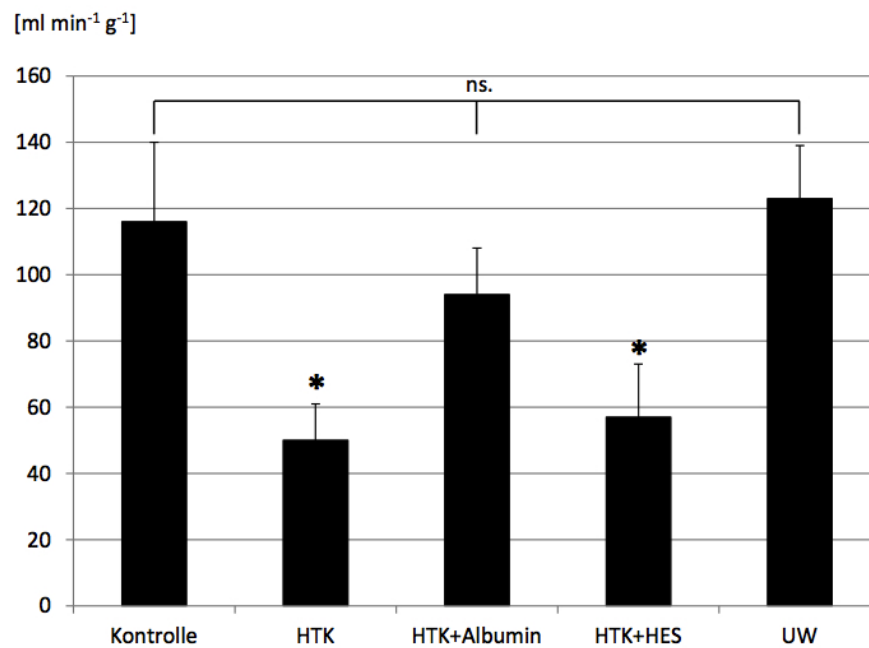


Abbildung 3.2: Herzzeitvolumen rechtsventrikulär arbeitender Herzen, $\ast = P < 0,01$ vs. Kontrolle, HTK+Albumin und UW, ns. = nicht signifikant

3 Ergebnisse

Die unten stehende Tabelle 3.5 listet die Herzen auf, die auch gegen die niedrige Nachlast¹² keinen Auswurf generieren konnte. Dabei wurde zwischen Herzen mit persistierendem Kammerflimmern und Pumpversagern mit einem koordinierten Herzrhythmus unterschieden. In den Kontrollgruppen zeigte keines der Herzen eine derartige Störung. In den Gruppen UW und HTK+Albumin war der Anteil an Herzen mit schwerer postischämischer Funktionsstörung deutlich geringer als in den Gruppen HTK und HTK+HES, wobei der Unterschied nicht statistisch signifikant ist¹³.

Tabelle 3.5: Herzen ohne Auswurfleistung

Gruppe	n	Kammerflimmern	Pumpversagen	Gesamt	%
Kontrolle	10	0	0	0	0
HTK	16	2	4	6	37
HTK+Albumin	12	0	2	2	17
HTK+HES	7	2	0	2	29
UW	11	0	1	1	9

n=Gesamtzahl der eingeschlossenen Herzen, HTK=Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung, UW=University-of-Wisconsin-Lösung, HES=Hydroxyethylstärke

3.4 Freisetzung von Glykokalyxbestandteilen

Aufgrund eines Laborfehlers ergaben die Bestimmungen der Konzentration von Heparansulfat und Syndecan-1 in den während der frühen und späten Reperfusion entnommenen Proben kein verwertbares Ergebnis. Allerdings stehen hier von unserer Arbeitsgruppe bereits andernorts veröffentlichte Ergebnisse weiterer Versuchsreihen zur Verfügung, bei denen das verwendete Versuchsprotokoll mit dem der vorliegenden Arbeit bis zum Ende der Reperfusionsphase (Minute 20) identisch war [121]. Diese Ergebnisse werden im Kapitel 4 der vorliegenden Arbeit vorgestellt (siehe Tabelle 4.1 auf Seite 56).

¹²linksventrikulär arbeitendes Herz: 60 cm H₂O, rechtsventrikulär arbeitendes Herz: 15 cm H₂O

¹³Pearson-Chi-Quadrat, $\chi^2=6,874$ P=0,143

3.5 Freisetzung von Metaboliten

Im Vergleich zu den nicht der kalten Ischämie unterworfenen Herzen der Kontrollgruppe arbeitendes linkes Herz kam es in den der Ischämie ausgesetzten Herzen erwartungsgemäß zu einer deutlichen Zunahme der Freisetzung von Purinen¹⁴ (siehe Tabelle 3.6 auf Seite 49). Bei der Freisetzung von Purinen und Harnsäure¹⁵ in der frühen Reperfusion ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe UW und allen anderen Versuchsgruppen (siehe Tabelle 3.6). Diese Effekte sind auf die Zusammensetzung der in dieser Gruppe verwendeten University-of-Wisconsin-Lösung (UW) zurückzuführen (vgl. Tabelle 2.3 auf Seite 23). Die UW-Lösung enthält das Purinderivat Adenosin, was die erhöhte Purinfreisetzung erklärt. Außerdem findet sich in der UW-Lösung Allopurinol, das als kompetitiver Inhibitor der Xanthinoxidase den Purinabbau zu Harnsäure hemmt.

Während der späten Reperfusion war die Freisetzung von Purinen in den der Ischämie ausgesetzten Gruppen höher als in der Kontrollgruppe, allerdings war der Unterschied statistisch nicht signifikant¹⁶. Die Harnsäurefreisetzung während der späten Reperfusion war in der Gruppe HTK+HES gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht¹⁷ (siehe Tabelle 3.6).

Werden die freigesetzten Mengen des Purinmetaboliten Harnsäure und der Purine addiert, dann zeigt sich in der frühen Reperfusionsphase ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe UW und allen anderen Gruppen¹⁸, der auf das in der UW-Lösung enthaltene Adenosin zurückgeführt werden kann (siehe Tabelle 3.6). In der späten Reperfusionsphase zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen¹⁹.

Für die Freisetzung von Laktat ergab sich während der frühen Reperfusion ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und allen Gruppen mit Ischämie²⁰ (siehe Tabelle 3.6). Die hohe Laktatproduktion in diesen Versuchsgruppen kann der Umstellung des Stoffwechsels auf anaerobe Glykolyse während der Ischämieperiode zu-

¹⁴einseitiger ANOVA, $df=4$, $F=35,4$, $P<0,001$

¹⁵einseitiger ANOVA, $df=4$, $F=14,26$, $P<0,01$

¹⁶einseitiger ANOVA, $df=4$, $F=2,55$, $P=0,058$

¹⁷einseitiger ANOVA, $df=4$, $F=5,56$, $P=0,002$

¹⁸einseitiger ANOVA, $df=4$, $F=34,83$, $P<0,001$

¹⁹einseitiger ANOVA, $df=4$, $F=2,27$, $P=0,083$

²⁰einseitiger ANOVA, $df=4$, $F=5,301$, $P=0,002$

3 Ergebnisse

geschrieben werden. Während der späten Reperfusion war die Laktatfreisetzung in den der Ischämie ausgesetzten Herzen weiter höher als in der Kontrollgruppe, der Unterschied war aber statistisch nicht mehr signifikant²¹.

²¹einseitiger ANOVA, $df=4$, $F=3,036$, $P=0,031$

3 Ergebnisse

Tabelle 3.6: Freisetzung von Metaboliten in der Reperfusion

Gruppe	n	Frühe Reperfusion (P1) [$\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$]	Späte Reperfusion(P2) [$\mu\text{mol} \cdot \text{g DW}^{-1}$]
Purine			
Kontrolle	5	0,32 \pm 0,1	0,02 \pm 0,0
HTK	10	3,49 \pm 1,0*	0,15 \pm 0,1
HTK+Albumin	10	2,82 \pm 0,9*	0,12 \pm 0,1
HTK+HES	5	2,98 \pm 1,0*	0,23 \pm 0,1
UW	10	25,52 \pm 9,4 [‡]	0,32 \pm 0,3
Harnsäure			
Kontrolle	5	0,15 \pm 0,0	0,05 \pm 0,0
HTK	10	0,20 \pm 0,1	0,07 \pm 0,0
HTK+Albumin	10	0,18 \pm 0,1	0,07 \pm 0,0
HTK+HES	5	0,18 \pm 0,1	0,10 \pm 0,0 [#]
UW	10	0,00 \pm 0,0 [‡]	0,01 \pm 0,0
Purine gesamt (Purine + Harnsäure)			
Kontrolle	5	0,5 \pm 0,1	0,07 \pm 0,0
HTK	10	3,69 \pm 1,0*	0,23 \pm 0,1
HTK+Albumin	10	3,0 \pm 0,9*	0,2 \pm 0,1
HTK+HES	5	3,16 \pm 1,1*	0,32 \pm 0,1
UW	10	25,5 \pm 9,4 [‡]	0,37 \pm 0,3
Laktat			
Kontrolle	5	42,7 \pm 12	4,1 \pm 1,9
HTK	10	152,3 \pm 34 [#]	10,7 \pm 3,4
HTK+Albumin	10	147,8 \pm 37 [#]	6,8 \pm 2,2
HTK+HES	5	156,1 \pm 55 [#]	7,2 \pm 2,6
UW	10	128,7 \pm 33 [#]	9,7 \pm 4,2

Jeweils Mittelwert \pm SD, * = P < 0,001 vs. Kontrollgruppe, [‡] = P < 0,001 vs. alle anderen Gruppen, [#] = P = 0,002 vs. Kontrollgruppe, DW = Trockengewicht, HTK = Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung, UW = University-of-Wisconsin-Lösung,, P1 = frühe Reperfusionsphase (Minuten 0-3), P2 = späte Reperfusionsphase (Minuten 17-20)

4 Diskussion

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche kommen zu folgendem Ergebnis: Im Vergleich zur konventionellen HTK-Lösung oder HTK+HES-Lösung erreichten die Herzen unter dem Schutz von UW-Lösung und HTK+Albumin-Lösung nach vierstündiger kalter Ischämie und Reperfusion eine bessere rechtsventrikuläre Pumpfunktion. Zusätzlich traten in diesen Gruppen weniger Herzen auf, die auch bei niedriger Nachlast keine Auswurfleistung erzeugen konnten.

4.1 Methodenkritik

Gewonnen wurden diese Daten in Untersuchungen an ex vivo perfundierten Säugetierherzen. Diese Versuchsanordnung geht auf Oskar Langendorff zurück, der 1895 durch retrograde Perfusion der Aorta erstmals die Herzaktion eines Säugetierherzens außerhalb des Körpers wiederherstellen konnte [140]. Dieses Langendorff-Modell ist bis heute ein viel genutztes Verfahren zur Untersuchung verschiedener Fragestellungen [80, 235]. Da die Pumpfunktion des sich ungefüllt kontrahierenden linken Ventrikels im Langendorff-Modell nicht untersucht werden kann, entwickelten Neely und Morgan 1967 ein ex vivo linksventrikulär arbeitendes Herzmodell [182]. Diese Versuchsanordnung hat sich ebenfalls zu einem etablierten Modell entwickelt, an dem sich der Einfluss verschiedener Faktoren auf die linksventrikuläre Funktion untersuchen lässt [81, 101, 244]. Daher wurde dieses Modell im Rahmen der vorliegenden Arbeit angewandt.

Das ex vivo perfundierte Herzmodell weist natürlich Abweichungen von den Bedingungen in vivo auf. So fehlt die neuronale und humorale Regulation der Herzfunktion [243]. Die vorwiegend eingesetzten zellfreien, kristalloiden Perfusionslösungen enthalten keine Sauerstoffträger. Ihre Sauerstofftransportkapazität ist daher nur gering, weshalb zur Versorgung des Myokards ein höherer Koronarfluss als in vivo erforderlich ist [178].

4 Diskussion

Außerdem weichen die rheologischen Eigenschaften der kristalloiden Perfusionslösungen von denen des Blutes ab, was zu der stark erhöhten Flussgeschwindigkeit im Koronarsystem beiträgt und eine veränderte Scherspannung an den Endothelzellen zur Folge hat [235]. Da die verwendeten Perfusionslösungen in der Regel keine Kolloidkomponenten enthalten, kommt es zu einer verstärkten Ödembildung [235, 243].

Aufgrund dieser Abweichungen tritt bei den ex vivo perfundierten Herzen ab einer Stunde Versuchsdauer eine zunehmende Verschlechterung der Pumpfunktion auf, die eine Durchführung von Versuchen mit längerer Beobachtungszeit beeinträchtigt [87, 243].

Diesen Nachteilen steht aber eine Reihe an Vorteilen gegenüber, die das ex vivo perfundierte Herz dennoch zu einem sinnvollen Instrument bei der Beantwortung verschiedener wissenschaftlicher Fragestellungen machen.

So ist die Präparation technisch vergleichsweise einfach und mit geringem Aufwand an Zeit, Material und Personal durchführbar [235].

Das Organ ist von allen Seiten frei zugänglich, so dass unterschiedliche Interventionen und verschiedene morphologische, hämodynamische, biochemische und pathologische Untersuchungen ungestört durchgeführt werden können [235, 243]. Darüber hinaus erlaubt dieses Modell Interventionen, die aufgrund von Arrhythmien oder einer Einschränkung der kardialen Pumpfunktion in einem in-vivo-Modell eine schwere Störung der Kreislauffunktion oder sogar den unbeabsichtigten Tod des Versuchstieres zur Folge hätten [243, 279].

Außerdem ermöglicht diese Methode eine hohe Standardisierung der Versuchsbedingungen, da verschiedene bei in-vivo-Versuchen auftretende Störvariablen fehlen [235, 243]. Besonders relevant ist dabei die Möglichkeit zur exakten Vorgabe von Vor- und Nachlast, was eine Erfassung von kleinen Veränderungen in der Kontraktilität erlaubt und das ex vivo arbeitende Herzmodell zu einer idealen Methode für die Beurteilung der myokardialen Pumpfunktion macht [270, 279].

Ein enormer Vorzug des ex vivo perfundierten Herzes besteht darin, dass im Gegensatz zu Zellkulturen ein intaktes Organ mit einem kompletten Gefäßbett untersucht werden kann [235, 279]. Dies ermöglicht wie in der vorliegenden Arbeit beschrieben Experimente, die den Einfluss einer Intervention am Gefäßendothel auf die myokardiale Pumpfunktion zum Gegenstand haben. Da die endotheliale Glykokalyx auf kultivierten

4 Diskussion

Endothelzellen teilweise nur rudimentär vorhanden ist, scheinen Untersuchungen an Zellkulturen zu diesem Thema nur von geringem Wert zu sein [53, 122, 97, 202, 203].

Für die Untersuchung der in dieser Arbeit behandelten Fragestellungen stehen auch unterschiedliche in-vivo-Modelle zur Verfügung [93].

Lower und Shumway entwickelten 1960 die Technik der orthotopen Herztransplantation, bei der das dem Spendertier entnommene Organ anstelle des nativen Herzens in den Thorax des Empfängertieres implantiert wird [153, 233]. Diese Technik wird bis heute mit geringen Abweichungen in der Herzchirurgie bei der Herztransplantation eingesetzt [84, 147]. Als experimentelles Modell ist die orthotope Herztransplantation allerdings technisch und personell sehr aufwendig. So muss das Empfängertier während des Eingriffes mit einer miniaturisierten Herz-Lungen-Maschine am Leben erhalten werden [227].

Dieses Problem umgeht das Modell der heterotopen Herztransplantation, bei dem das transplantierte Organ zusätzlich zum nativen Herz in den Bauchraum des Empfängertieres eingesetzt wird [93]. Dabei wird oft ein 1969 von Ono und Lindsey vorgestelltes Modell genutzt, bei dem ähnlich wie beim Langendorff-Modell das Koronarsystem des transplantierten Organs passiv aus der Aorta des Empfängertiers perfundiert wird [192]. In diesem Modell kann allerdings die ventrikuläre Pumpfunktion nicht beurteilt werden und die fehlende Volumenbelastung des linken Ventrikels führt zu einer Atrophie des Myokards [111, 133].

Um dies zu vermeiden, wurden verschiedene Modelle eines uni- oder biventrikulär arbeitenden heterotop transplantierten Herzens vorgestellt, die jedoch ebenfalls Abweichungen von der normalen Physiologie und teilweise größere Eingriffe in die Anatomie der Herzen beinhalten [10, 79, 277, 267]. Eine besondere Einschränkung vieler dieser Modelle ist, dass die koronare Versorgung des transplantierten Organs mit teilweise desoxygeniertem Blut aus der Vena cava inferior des Empfängertiers erfolgt [246]. Insgesamt wird daher das Modell der orthotopen Herztransplantation für die Beurteilung der kardialen Pumpfunktion als besser geeignet angesehen [201].

Alle in-vivo-Modelle sind technisch schwieriger und deutlich aufwendiger als das ex vivo perfundierte Herzmodell [279]. Außerdem bergen sie bei Versuchen mit kalter Ischämie die Gefahr einer ungewollten und unkontrollierten Wiedererwärmung des

4 Diskussion

Herzens während der zeitaufwendigen Präparation, was zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen kann [267, 277].

Das ex vivo perfundierte, arbeitende Herzmodell scheint von den zur Auswahl stehenden Methoden das zur Beantwortung der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Fragestellungen am besten geeignete Verfahren zu sein, da die optimale Kontrolle der Versuchsbedingungen eine genaue Beurteilung der Pumpfunktion ermöglicht.

Gesondert diskutiert werden muss die Untersuchung der rechtsventrikulären Pumpfunktion mit einem ex vivo rechtsventrikulär arbeitenden Herzmodell im Rahmen dieser Arbeit. Bei diesem 1987 von Werchan und McDonough beschriebenen Modell werden die Koronarien im Langendorff-Modus passiv perfundiert, während mit einer zweiten Anlage und einer über eine Hohlvene eingebrachten Kanüle die Vorlast vor dem rechten Herzen unabhängig vom Koronarfluss festgelegt werden kann [268]. Das Modell wurde in der Vergangenheit von verschiedenen Arbeitsgruppen genutzt, um unter anderem die Folgen von Ischämie und Reperfusion auf die rechtsventrikuläre Pumpfunktion zu untersuchen [90, 134, 261, 269].

Als Alternative hätte ein 1992 von Demmy et al. vorgestelltes biventrikulär arbeitendes Herzmodell zur Verfügung gestanden, das ebenfalls die Beurteilung der rechtsventrikulären Pumpfunktion erlaubt [77].

Verglichen mit dem biventrikulär arbeitenden Herzmodell weicht das rechtsventrikulär arbeitende Herzmodell weiter von der normalen Physiologie ab. Die in diesem Modell fehlende Füllung des linken Ventrikels beeinflusst auch die Verhältnisse im rechten Ventrikel, da aufgrund der engen anatomischen Beziehungen zwischen den beiden Ventrikeln sowohl die diastolische als auch die systolische Funktion eines Ventrikels mit von dem jeweils anderen Ventrikel abhängt (ventrikuläre Interdependenz) [33, 223]. Während der Einfluss des rechten Ventrikels auf die linksventrikuläre Funktion nur gering ist, sind 20 bis 40% des rechtsventrikulären systolischen Drucks auf die Kontraktion des linken Ventrikels zurückzuführen [223, 273]. Im rechtsventrikulär arbeitenden Herzmodell dürfte dieser Effekt jedoch großteils wegfallen, da der nicht mit Volumen gefüllte linke Ventrikel nur einen deutlich geringeren systolischen Druck aufbauen kann. Bei genauerer Betrachtung scheint dies für die hier untersuchten Fragestellungen von Vorteil zu sein, da damit die ventrikuläre Interdependenz als Störgröße bei der Bestim-

4 Diskussion

mung der rechtsventrikulären Pumpfunktion wegfällt.

Ein eindeutiger Vorteil des rechtsventrikulär arbeitenden Herzmodells gegenüber dem biventrikulär arbeitenden Herzen ist die Sicherstellung der Koronarperfusion durch die Langendorff-Anlage. Damit kann sichergestellt werden, dass eine beobachtete Verschlechterung der rechtsventrikulären Pumpfunktion wirklich durch die untersuchte Intervention und nicht sekundär durch eine unzureichende Koronarversorgung bei linksventrikulärer Insuffizienz bedingt ist.

Kritisch gesehen werden muss bei den hier beschriebenen Versuchen sicher die Verwendung eines Krebs-Henseleit-Puffers ohne Albuminzusatz als Perfusat während der Reperfusion und dem Versuchablauf im arbeitenden Modus. Dadurch kam es in der Gruppe HTK+Albumin zu einem Auswaschen des in der Präservationslösung enthaltenen Albumins im Rahmen der Reperfusion, so dass der vermutete protektive Effekt nur während der Ischämie und zu Beginn der Reperfusion wirksam war. Die in allen Versuchsgruppen mit Ischämie gleich ausgeprägte deutliche Ödembildung ist vermutlich auf die Verwendung der kolloidfreien Perfusionslösung zurückzuführen.

In der Literatur sind Versuche beschrieben, bei denen der Effekt einer Intervention durch einen Vergleich der myokardialen Pumpfunktion vor und nach der Intervention an der Versuchsanlage bestimmt wurde [221]. Dabei kommt es aber während der Organentnahme an der Versuchsanlage unvermeidbar zu einer kurzen Ischämie. Diese könnte durch einen Präkonditionierungseffekt die Auswirkungen der folgenden vierstündigen kalten Ischämieperiode beeinflussen und damit die Versuchsergebnisse verfälschen [180]. Daher wurde bei den hier beschriebenen Versuchen statt dessen zum Vergleich eine Gruppe Herzen herangezogen, die einem mit Ausnahme der kalten Ischämieperiode zeitlich identischen Versuchsprotokoll unterzogen wurden (Kontrollgruppe).

4.2 Bewertung der Ergebnisse

Die signifikante Erhöhung der Laktatfreisetzung in der frühen Reperfusionphase bei den der Ischämieperiode ausgesetzten Herzen ist auf den anaeroben Stoffwechsel während der Ischämieperiode zurückzuführen.

Die kardiale Purinbildung war bei den der Ischämie ausgesetzten Herzen im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht, was als Zeichen des Katabolismus der energiereichen Adenin- und Guaninnukleotide während der Ischämiezeit zu erwarten war.

Die gegenüber den anderen Versuchsgruppen in der Gruppe UW erhöhte Purin- und erniedrigte Harnsäurefreisetzung während der frühen Reperfusionphase ist durch die Zusammensetzung der UW-Lösung zu erklären (siehe Tabelle 2.3 auf Seite 23). Sie enthält das Nukleosid Adenosin und Allopurinol, das als kompetitiver Inhibitor der Xanthinoxidase den Abbau der Purine Hypoxanthin und Xanthin zu Harnsäure hemmt [64]. Gleichzeitig wirkt die Substanz als endogenes Antioxidans, da es die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies vermindert [21, 171].

Albumin als Bestandteil der Präservationslösung hatte keinen Einfluss auf die Laktat- oder Purinfreisetzung während der Ischämie.

Aufgrund eines Laborfehlers bei der Bestimmung der Glykokalyxbestandteile in den während der Reperfusion gesammelten Proben kann diese Arbeit die Frage nach den Auswirkungen der unterschiedlichen Präservationslösungen auf die endotheliale Glykokalyx leider nicht direkt beantworten.

Hierzu liegen aber von unserer Arbeitsgruppe bereits andernorts veröffentlichte Daten vor [121]. Diese wurden bei Versuchen gewonnen, bei denen das Versuchsprotokoll mit dem der hier beschriebenen Versuche bis zum Ende der Reperfusion übereinstimmte. Dabei wurde ebenfalls das Koronareffluat während der ersten drei Minuten und Minute 17 bis 20 der Reperfusion gesammelt und dann die in diesen Proben vorhandene Menge an Glykokalyxbestandteilen bestimmt.

Es zeigte sich in der Gruppe HTK eine gegenüber der Kontrollgruppe ohne Ischämie signifikant erhöhte Freisetzung des Proteoglykans Syndecan-1 während der frühen Reperfusion, während zwischen der Gruppe HTK+Albumin und der Kontrollgruppe kein Unterschied bestand.

4 Diskussion

Bei beiden der kalten Ischämie ausgesetzten Gruppen HTK und HTK+Albumin trat während der frühen Reperfusion eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöhte Freisetzung des Glykosaminoglykans Heparansulfat auf. Allerdings war die Freisetzung in der Gruppe HTK doppelt so groß wie in der Gruppe HTK+Albumin (siehe Tabelle 4.1 unten) [121].

Ergänzend zeigte sich in elektronenmikroskopischen Aufnahmen mit Lanthanfixierung bei mit HTK-Lösung behandelten Herzen nach vier Stunden kalter Ischämie und Reperfusion eine deutliche Zerstörung der endothelialen Glykokalyx und ein ausgeprägtes interstitielles Ödem, während sich bei den Organen in der Gruppe HTK+Albumin eine intakte Glykokalyx auf den Endothelzellen darstellen ließ [121].

Diese Ergebnisse zeigen, dass Albumin als Bestandteil der Präservationslösung die endotheliale Glykokalyx während der vierstündigen kalten Ischämie und der anschließenden Reperfusion erhalten kann, während es bei der Verwendung der aktuell klinisch eingesetzten albuminfreien HTK-Lösung zu einer Zerstörung dieser Struktur kommt.

Tabelle 4.1: Freisetzung von Glykokalyxbestandteilen in der frühen Reperfusion (P1), nach [121]

Gruppe	Syndecan-1 [$\mu\text{g} \cdot \text{g DW}^{-1}$]	Heparansulfat [$\mu\text{g} \cdot \text{g DW}^{-1}$]
Kontrolle	6,6 \pm 0,8	14 \pm 11
HTK	8,8 \pm 0,8*	808 \pm 176*
HTK+Albumin	6,6 \pm 0,8	328 \pm 61#

Jeweils Mittelwert \pm SD, * = $P < 0,05$ vs. Kontrolle und HTK+Albumin, # = $P < 0,05$ vs. Kontrolle und HTK
HTK=Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung, DW=Trockengewicht

4 Diskussion

Die Versuche am linksventrikulär arbeitenden Herzmodell ergaben für die Pumpfunktion und die geleistete Druck-Volumen-Arbeit bei einer Nachlast von 60 cm H₂O keinen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen. Auffällig dabei ist der fehlende Unterschied zwischen der Kontrollgruppe ohne Ischämie und den Versuchsgruppen nach vierstündiger kalter Ischämie. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Organe in der Kontrollgruppe durch die kurzzeitige warme Ischämie bei der Entnahme Schaden genommen haben.

Dagegen spricht allerdings, dass diese Ischämie von Versuchsbeginn bis zur Reperfusion weniger als eine Minute dauerte und die Herzen nach der Eröffnung des Thorax rasch durch eine externe kalte Spülung zum Stillstand gebracht wurden. Außerdem wurden die Organe in der Kontrollgruppe für das rechtsventrikulär arbeitende Herzmodell auf die gleiche Weise entnommen und hier zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsgruppen.

Die wahrscheinlichste Erklärung für den fehlenden Unterschied zwischen der Kontroll- und den Versuchsgruppen dürfte sein, dass die vierstündige Ischämiezeit nicht ausreichend war, um in Anwesenheit einer Präservationslösung einen signifikanten Schaden am linksventrikulären Myokard zu verursachen. Die Ischämiedauer von vier Stunden wurde in Anlehnung an die empfohlene Obergrenze der Ischämiezeit bei Herztransplantationen gewählt [66]. In der Literatur sind funktionelle Untersuchungen an Säugetierherzen nach einer deutlich längerer Ischämiedauer von bis zu 24 Stunden beschrieben [32, 92, 109]. Möglicherweise hätten die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche bei einer längeren Ischämiedauer auch für die linksventrikuläre Pumpfunktion einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen gezeigt.

Die zweite Stufe der Nachlast scheint mit 80 cm H₂O zu hoch gewählt worden zu sein, da auch in der nicht der Ischämie ausgesetzten Kontrollgruppe nur zwei von fünf Herzen gegen diese Nachlast einen Auswurf generieren konnte. Tatsächlich lag in allen Gruppen die maximale linksventrikuläre Druckentwicklung im Mittel unter 80 cm H₂O (siehe Tabelle 3.3 auf Seite 43).

Bei den Versuchen am rechtsventrikulär arbeitenden Herzmodell erbrachten die Herzen aus den Gruppen HTK und HTK+HES bei einer Nachlast von 15 cm H₂O eine signifikant schlechtere Pumpleistung als die der Kontrollgruppe. In den Gruppen UW und HTK+Albumin dagegen konnte die rechtsventrikuläre Pumpfunktion nach Ischämie

4 Diskussion

und Reperfusion besser erhalten werden, so dass mit der Kontrollgruppe vergleichbare Werte erreicht wurden.

Bei der erhöhten Nachlast von 25 cm H₂O zeigte sich in der Gruppe UW der Effekt der kalten Ischämie durch eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant schlechtere Pumpleistung. In den übrigen Versuchsgruppen mit Ischämie konnte jeweils überhaupt nur ein Teil der Herzen gegen diese erhöhte Nachlast Perfusat auswerfen.

Die im Vergleich zum linken Ventrikel geringere Resilienz des rechten Ventrikel gegenüber Ischämie und Reperfusion ist zumindest teilweise auf geringe rechtsventrikuläre Muskelmasse zurückzuführen. Außerdem erfährt der linke im Gegensatz zum rechten Ventrikel regelmäßig hohe Druckbelastungen und eine maximale Sauerstoffentnahme aus dem Koronarblut bei körperlicher Belastung, was eine höhere Adaptationsfähigkeit an Stress bedingt.

Worauf kann die unterschiedliche Effektivität der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Präservationslösungen bei der Erhaltung der postischämischen Pumpfunktion zurückgeführt werden?

Die von Belzer 1987 eingeführte University-of-Wisconsin-Lösung (UW) beinhaltet einen Phosphatpuffer sowie als osmotisch wirksame Inhaltsstoffe Lactobionat, Raffinose und das künstliche Kolloid Hydroxyethylstärke [22, 173, 260]. Außerdem enthält sie die Antioxidantien Allopurinol und Glutathion (siehe Tabelle 2.3 auf Seite 23) [158]. Durch diese Zusammensetzung konnte in verschiedenen Arbeiten eine gute Erhaltung der myokardialen Pumpfunktion auch bei längerer Ischämiedauer gezeigt werden, was die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen [95, 109, 137]. Im Vergleich zu kristallinen Präservationslösungen konnten kultivierte Endothelzellen mit UW-Lösung auch bei langer Ischämiedauer besser erhalten werden [198]. Auf der anderen Seite beeinträchtigt UW-Lösung die Stickstoffmonoxidfreisetzung aus Endothelzellen und damit die endothelvermittelte koronare Vasodilatation [199].

Im Rahmen der Herztransplantation wird die UW-Lösung heute nicht mehr eingesetzt, da sie trotz guter Frühergebnisse das Langzeitüberleben der Patienten negativ beeinflusst [82, 137, 167].

4 Diskussion

Die Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung (HTK) wurde von Bretschneider als physiologische Kardioplegielösung entwickelt und besitzt mit Histidin ein potentes Puffersystem, das zusammen mit Mannitol auch als osmotisch wirksame Komponente dient. Außerdem enthält sie die Aminosäure Tryptophan sowie Ketoglutarat zur Membranstabilisierung, wobei letztere Substanz auch als Substrat für den Stoffwechsel dient (siehe Tabelle 2.3 auf Seite 23) [34, 158, 173].

Die Versuchslösungen HTK+Albumin und HTK+HES enthielten zusätzlich 1% Albumin respektive 1% Hydroxyethylstärke.

Der positive Effekt der HTK+Albumin-Lösung auf die postischämische Herzfunktion kann nicht primär auf die kolloid-osmotische Wirkung von Albumin zurückgeführt werden, da durch die Zugabe des künstlichen Kolloids Hydroxyethylstärke in der Gruppe HTK+HES kein vergleichbarer Effekt erzielt werden konnte.

Wie die in der UW-Lösung enthaltenen Zusätze Glutathion und Allopurinol weist auch humanes Serumalbumin eine antioxidative Wirkung auf [9, 249]. Daher könnte die in den Gruppen UW und HTK+Albumin beobachtete gute postischämische Erholung der rechtsventrikulären Pumpfunktion durch einen antioxidativen Effekt während der Reperfusion zu erklären sein.

Kommerziell verfügbare Humanalbuminpräparationen, wie sie in der vorliegenden Arbeit zum Einsatz kamen, enthalten aber aufgrund des Herstellungsprozesses und der Lagerungsbedingungen neben nativem humanem Serumalbumin auch eine Vielzahl an chemisch veränderten Formen [249]. Ein relevanter Anteil der Humanalbuminmoleküle liegt dabei in oxidiert Form vor [14]. Ob diese kommerziell erhältlichen Humanalbuminpräparationen wirklich eine antioxidative Wirkung haben, ist daher unklar [14, 249].

Eine weitere mögliche Erklärung für die beobachtete positive Wirkung von Albumin auf die postischämische Erholung der rechtsventrikulären Pumpfunktion ist ein Effekt an der endothelialen Glykokalyx. Albumin besitzt eine hohe Affinität zur endothelialen Glykokalyx und spielt eine zentrale Rolle bei Aufbau und Funktion des Endothelial Surface Layers [2, 117, 205, 217].

Jacob et al. konnten 2007 zeigen, dass durch die Beimischung einer kommerziell erhältlichen Humanalbuminpräparation zu einer kristalloiden Perfusionslösung die Barrierefunktion des Endothelial Surface Layer erhalten werden kann [117]. Chiavarelli

4 Diskussion

et al. konnten bereits zuvor eine intakte endotheliale Glykokalyx nach Ischämie und Reperfusion unter dem Schutz einer albuminhaltigen Präservationslösung beobachten, während die Struktur beim Einsatz einer kristalloiden Präservationslösungen schwere Schäden davontrug [55]. Auch die auf Seite 57 dieser Arbeit angeführten Daten unserer Arbeitsgruppe zum Nachweis von Glykokalyxbestandteilen in während der Reperfusion gewonnenen Proben zeigen, dass eine albuminhaltige Präservationslösung den Endothelial Surface Layer während der Ischämie und Reperfusion erhalten kann [121].

Auf der Basis unseres heutigen Wissens über die vielfältigen physiologischen Funktionen dieser Struktur kann gefolgert werden, dass eine intakte endotheliale Glykokalyx während Ischämie und Reperfusion den Zustand der Organe positiv beeinflusst [19, 49, 217]. So wird ein Ausspülen der in der endothelialen Glykokalyx gebundenen antioxidativ wirksamen Enzyme verhindert und so der Schutz des Endothels vor oxidativem Stress während der Ischämie und Reperfusion verbessert [217]. In der oben genannten Arbeit von Chiavarelli et al. konnte eine albuminhaltige Präservationslösung die Endothelzellen bei Ischämie und Reperfusion erhalten, während bei der Verwendung einer kristalloiden Präservationslösung schwere Schäden an den Endothelzellen beobachtet wurden [55]. Harjula et al. konnten zeigen, dass schon eine Spülung des Koronarsystems mit einer kristalloiden Präservationslösung Schäden am Endothel verursachte, die beim Einsatz einer Blut oder Albumin enthaltenden Präservationslösung ausblieben [103].

Eine intakte endotheliale Glykokalyx verhindert in vivo außerdem eine massive Aktivierung und Transmigration von Leukozyten während der Reperfusion und damit eine überschießende Inflamationsreaktion [174].

Eine intakte endotheliale Glykokalyx ist daneben auch ein zentrales Element der vasculären Barriere gegen Flüssigkeitsextravasation und spielt eine wichtige Rolle bei der schubspannungsabhängigen Freisetzung von Stickstoffmonoxid [248, 264].

Mehrere Arbeiten konnten im Tiermodell beobachten, dass bei der Verwendung von plasmaproteinfreien Präservationslösungen die endothelabhängige koronare Vasodilatation nach kalter Ischämie und Reperfusion vor allem im Bereich des rechten Ventrikels gestört ist [179, 199, 232, 271]. Selke und Murphy konnten unabhängig voneinander zeigen, dass dieser Effekt durch die Zumischung von Blut oder Albumin zu den Präservationslösungen vermieden werden kann [179, 231].

4 Diskussion

Aus der vorhandenen Literatur und den Befunden unserer Arbeitsgruppe kann also geschlossen werden, dass Albumin als Bestandteil einer Präservationslösung durch den Schutz der endothelialen Glykokalyx die strukturelle Integrität und die physiologische Funktion der Endothelzellen während einer mehrstündigen kalten Ischämie und der anschließenden Reperfusion erhalten kann. Wie die vorliegende Arbeit zeigt, verbessert Albumin zudem die postischämische rechtsventrikuläre Pumpfunktion.

4.3 Klinische Einordnung der Ergebnisse und Ausblick

Dieser positive Effekt der albuminhaltigen Präservationslösung auf die postischämische rechtsventrikuläre Pumpfunktion ist im Hinblick auf eine mögliche klinische Anwendung deshalb besonders interessant, da eine rechtsventrikuläre Insuffizienz im Rahmen einer Herztransplantation häufig auftritt. Registerstudien ergaben, dass eine rechtsventrikuläre Funktionsstörung bei Herztransplantationen für die Hälfte der perioperativen kardialen Komplikationen und für über 40% der intraoperativen Todesfälle verantwortlich ist [84, 157, 239]. Damit ist die rechtsventrikuläre Insuffizienz trotz der Möglichkeiten der modernen Intensivmedizin noch immer eine der führenden Todesursachen in der Frühphase nach einer Herztransplantation und verlängert zudem bei den überlebenden Patienten die Beatmungs- und die Intensivaufenthaltsdauer [157, 230, 258].

Wenn sich die Verbesserung der postischämischen rechtsventrikulären Pumpfunktion in weiteren Versuchen bestätigt, dann könnte der klinische Einsatz einer albuminhaltigen Präservationslösung die Inzidenz des primären Transplantatversagens senken und damit die Überlebensrate in der Frühphase nach einer Herztransplantation steigern.

Daneben könnte auch die Langzeitprognose nach einer Herztransplantation durch die klinische Anwendung albuminhaltiger Präservationslösungen verbessert werden. So zeigen bereits an anderer Stelle veröffentlichte Daten unserer Arbeitsgruppe, dass die Adhäsion von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten an das Koronarendothel isoliert perfundierter Meerschweinchenherzen durch den Einsatz der auch in dieser Arbeit verwendeten HTK+Albumin-Lösung deutlich gesenkt werden kann [121]. Dadurch könnte die bei der Reperfusion auftretende Inflamationsreaktion vermindert werden, die einen Schlüsselschritt bei der Pathogenese der Transplantatvaskulopathie darstellt [170, 253, 280]. Diese nur bei transplantierten Patienten auftretende, rasch fortschreitende Erkrankung führt über eine Intimahyperplasie zu Gefäßstenosen im gesamten Koronarbett [28, 61]. Sie ist eine der häufigsten Todesursachen ab dem zweiten Jahr nach der Transplantation [157].

Da die Forschung zu Alternativmethoden wie dem „Tissue engineering“ oder der

4 Diskussion

Xenotransplantation von einem klinischen Einsatz noch weit entfernt ist, werden wir auch in Zukunft bei der Therapie der schweren Herzinsuffizienz auf eine Transplantation von Spenderorganen angewiesen sein [159, 213]. Dabei wie auch bei der Transplantation anderer Organe könnte der Einsatz einer albuminhaltigen Präservationslösung die Ergebnisse verbessern.

Außerdem könnten auch Patienten profitieren, die sich einem herzchirurgischen Eingriff mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine unterziehen. Auch hier werden regelhaft während der kalten Ischämie kristalloide Kardioplegie- oder Präservationslösungen verwendet [12].

Natürlich dürfen die hier beschriebenen Untersuchungen an ex vivo perfundierten Säugetierherzen aufgrund der Limitationen der verwendeten Methoden und der kurzen Versuchsdauer für diese Perspektiven nur Anhaltspunkte liefern, denen auf dem Weg zu einer möglichen klinischen Anwendung in anderen Modellen weiter nachgegangen werden muss.

Diese Arbeit tritt zu einer Reihe weiterer Arbeiten, von deren Untersuchungen zur Rolle der endothelialen Glykokalyx für die Entstehung, die Prävention und die Therapie verschiedener Erkrankungen in Zukunft hoffentlich viele Patienten profitieren können [19]. Dazu könnten neben der kleinen Gruppe der organtransplantierten Patienten unter anderem auch Patienten mit septischen Schock oder einem Acute Respiratory Distress Syndrom (ARDS) zählen. Die aktuellen intensivmedizinischen Therapiekonzepte bei diesen Erkrankungen versuchen die Folgen von Inflammation, Mikrozirkulationsstörung und der Störung der Endothelbarriere zu lindern [36, 60, 75, 135, 228].

Die in den letzten Jahren gewonnenen Erkenntnisse lassen hoffen, dass in der weiteren Erforschung der endothelialen Glykokalyx der Schlüssel zu neuen, wirkungsvollen Therapiekonzepten für diese und anderen Erkrankungen liegt [19, 60, 74].

5 Zusammenfassung

Die endotheliale Glykokalyx ist eine Schicht aus Proteinen mit Kohlenhydratseitenketten auf der dem Blutstrom zugewandten Seite der Endothelzellen [217]. Sie bindet aus dem Blutstrom Plasmaproteine, Elektrolyte sowie einen Teil des Plasmawassers und bildet so den Endothelial Surface Layer, eine im Kapillarsystem bis zu 500 nm breite gelartige Schicht auf den Endothelzellen [205].

Diese Struktur erfüllt eine Reihe wichtiger physiologischer Funktionen für die Signalübertragung über die Zellmembran, für den Schutz vor oxidativem Stress und vor unkontrollierter Inflammations- und Gerinnungsaktivität und bildet einen wichtigen Teil der Endothelbarriere [20, 217].

Eine Zerstörung der endothelialen Glykokalyx durch verschiedene schädigende Faktoren spielt eine bedeutende Rolle bei der Pathogenese einer Vielzahl von Erkrankungen, insbesondere bei der Ischämie und Reperfusion [19, 49].

Aufgrund ihrer Funktionen könnte die endotheliale Glykokalyx eine relevante Rolle für den Schutz der Organe im Rahmen einer Transplantation spielen [205]. Allerdings wird die endotheliale Glykokalyx durch die heute übliche Verwendung proteinfreier Präservationslösungen bereits bei der Organentnahme zerstört [158, 205].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde untersucht, ob durch die Zugabe des Plasmaproteins Albumin (1%) zu einer häufig klinisch eingesetzten Präservationslösung (Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung nach Brettschneider) während einer mehrstündigen kalten Ischämie und Reperfusion die endotheliale Glykokalyx erhalten und die myokardiale Pumpfunktion verbessert werden kann.

Dazu wurden die Herzen von Meerschweinchen zu Stillstand gebracht und mit verschiedenen Präservationslösungen gespült. Dann wurden sie aus dem Körper des Versuchstiers entnommen und für vier Stunden bei 4°C gelagert. Anschließend erfolgte die Reperfusion an einer Versuchsanlage und die Messung des Herzzeitvolumens in einem ex vivo perfundierten, links- oder rechtsventrikulär arbeitenden Herzmodell.

5 Zusammenfassung

Während sich bei der linksventrikulären Pumpfunktion kein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen ergab, erreichten die mit der albuminhaltigen Versuchslösung behandelten Herzen eine signifikant bessere rechtsventrikuläre Pumpleistung.

Eine rechtsventrikuläre Funktionsstörung nach Ischämie und Reperfusion tritt bei Herztransplantationen häufig auf und ist ein entscheidender Faktor für die perioperative Mortalität [84, 157, 239]. Daher könnten die Ergebnisse der Herztransplantationen durch die klinische Verwendung albuminhaltiger Präservationslösung weiter verbessert werden.

6 Literaturverzeichnis

- [1] ABEL, FL ; WALDHAUSEN, JA: Effects of alterations in pulmonary vascular resistance on right ventricular function. In: *J Thorac Cardiovasc Surg* 54 (1967), S. 886–894
- [2] ADAMSON, RH ; CLOUGH, G: Plasma proteins modify the endothelial cell glycocalyx of frog mesenteric microvessels. In: *J Physiol* 445 (1992), S. 473–486
- [3] ADAMSON, RH ; LENZ, JF ; ZHANG, X ; ADAMSON, GN ; WEINBAUM, S ; CURRY, FE: Oncotic pressures opposing filtration across non-fenestrated rat microvessels. In: *J Physiol* 557 (2004), S. 889–907
- [4] AMRANI, M ; O'SHEA, J ; ALLEN, N J. ; HARDING, S E. ; JAYAKUMAR, J ; PEP-
PER, J R. ; MONCADA, S ; YACOB, M H.: Role of basal release of nitric oxide on coronary flow and mechanical performance of the isolated rat heart. In: *J Physiol* 456 (1992), S. 681–687
- [5] ANDO, J ; YAMAMOTO, K: Vascular mechanobiology: endothelial cell responses to fluid shear stress. In: *Circ J* 73 (2009), S. 1983–1992
- [6] ANDO, J ; YAMAMOTO, K: Flow detection and calcium signalling in vascular endothelial cells. In: *Cardiovasc Res* 99 (2013), S. 260–268
- [7] ANNECKE, T ; CHAPPELL, D ; CHEN, C ; JACOB, M ; WELSCH, U ; SOMMER-
HOFF, C P. ; REHM, M ; CONZEN, P F. ; BECKER, B F.: Sevoflurane preserves the endothelial glycocalyx against ischaemia-reperfusion injury. In: *Br J Anaesth* 104 (2010), S. 414–421
- [8] ANNECKE, T ; REHM, M ; BRUEGGER, D ; KUBITZ, JC ; KEMMING, GI ; STOE-
KELHUBER, M ; BECKER, BF ; CONZEN, PF: Ischemia-reperfusion-induced unmeasured anion generation and glycocalyx shedding: sevoflurane versus propofol anesthesia. In: *J Invest Surg* 25 (2012), S. 162–168
- [9] ANRAKU, M ; CHUANG, V ; MARUYAMA, T ; OTAGIRI, M: Redox properties of serum albumin. In: *Biochim Biophys Acta* 1830 (2013), S. 5465–5472
- [10] ASFOUR, B ; HARE, JM ; KOHL, T ; BABA, HA ; KASS, DA ; CHEN, K ; TJAN, TD ; HAMMEL, D ; WEYAND, M ; HRUBAN, RH ; SCHELD, HH ; BYRNE, BJ: A simple new model of physiologically working heterotopic rat heart transplantation provides hemodynamic performance equivalent to that of an orthotopic heart. In: *J Heart Lung Transplant* 18 (1999), S. 927–936

6 Literaturverzeichnis

- [11] BABA, HA ; WOHLISCHLAGER, J ; STYPMANN, J ; HIEMANN, NE: Herztransplantation. Pathologie, Klinik und Therapie. In: *Pathologe* 32 (2011), S. 95–103
- [12] BAEHNER, T ; BOEHM, O ; PROBST, C ; POETZSCH, B ; HOEFT, A ; BAUMGARTEN, G ; KNUEFERMANN, P: Kardiopulmonaler Bypass in der Herzchirurgie. In: *Anaesthesist* 61 (2012), S. 846–856
- [13] BANNER, NR ; THOMAS, HL ; CURNOW, EI ; HUSSEY, JC ; ROGERS, CA ; BONSER, RS: The importance of cold and warm cardiac ischemia for survival after heart transplantation. In: *Transplantation* 86 (2008), S. 542–547
- [14] BAR-OR, D ; BAR-OR, R ; RAEL, LT ; GARDNER, DK ; SLONE, DS ; CRAUN, ML: Heterogeneity and oxidation status of commercial human albumin preparations in clinical use. In: *Crit Care Med* 33 (2005), S. 1638–1641
- [15] BARNARD, CN: The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. In: *S Afr Med J* 41 (1967), S. 1271–1274
- [16] BATES, DO ; LEVICK, JR ; MORTIMER, PS: Starling pressures in the human arm and their alteration in postmastectomy oedema. In: *J Physiol* 477 (Pt 2) (1994), S. 355–363
- [17] BAYIR, H: Reactive oxygen species. In: *Crit Care Med* 33 (2005), S. S498–501
- [18] BECKER, BF: Towards the physiological function of uric acid. In: *Free Radic Biol Med* 14 (1993), S. 615–631
- [19] BECKER, BF ; CHAPPELL, D ; BRUEGER, D ; ANNECKE, T ; JACOB, M: Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential. In: *Cardiovasc Res* 87 (2010), S. 300–310
- [20] BECKER, BF ; CHAPPELL, D ; JACOB, M: Endothelial glycocalyx and coronary vascular permeability: the fringe benefit. In: *Basic Res Cardiol* 105 (2010), S. 687–701
- [21] BECKER, BF ; REINHOLZ, N ; OZCELIK, T ; LEIPERT, B ; GERLACH, E: Uric acid as radical scavenger and antioxidant in the heart. In: *Pflugers Arch* 415 (1989), S. 127–135
- [22] BELZER, FO ; KALAYOGLU, M ; D’ALESSANDRO, AM ; PIRSCH, JD ; SOLLINGER, HW ; HOFFMANN, R ; BOUDJEMA, K ; SOUTHARD, JH: Organ preservation: experience with University of Wisconsin solution and plans for the future. In: *Clin Transplant* 4 (1990), S. 73–77
- [23] BENNETT, HS: Morphological aspects of extracellular polysaccharides. In: *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 11 (1963), S. 14–23
- [24] BERESEWICZ, A ; CZARNOWSKA, E ; MACZEWSKI, M: Ischemic preconditioning and superoxide dismutase protect against endothelial dysfunction and endothelium glycocalyx disruption in the postischemic guinea-pig hearts. In: *Mol Cell Biochem* 186 (1998), S. 87–97

6 Literaturverzeichnis

- [25] BERMAN, M ; ALI, A ; ASHLEY, E ; FREED, D ; CLARKE, K ; TSUI, S ; PARAMESHWAR, J ; LARGE, S: Is stress cardiomyopathy the underlying cause of ventricular dysfunction associated with brain death? In: *J Heart Lung Transplant* 29 (2010), S. 957–965
- [26] BERNFIELD, M ; GOTTE, M ; PARK, PW ; REIZES, O ; FITZGERALD, ML ; LINCUM, J ; ZAKO, M: Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. In: *Annu Rev Biochem* 68 (1999), S. 729–777
- [27] BIGELOW, WG ; MUSTARD, WT ; EVANS, JG: Some physiologic concepts of hypothermia and their applications to cardiac surgery. In: *J Thorac Surg* 28 (1954), S. 463–480
- [28] BILLINGHAM, ME: Histopathology of graft coronary disease. In: *J Heart Lung Transplant* 11 (1992), S. S38–44
- [29] BIRKS, EJ ; YACIOUB, MH ; BURTON, PS ; OWEN, V ; POMERANCE, A ; O'HALLORAN, A ; BANNER, NR ; KHAGHANI, A ; LATIF, N: Activation of apoptotic and inflammatory pathways in dysfunctional donor hearts. In: *Transplantation* 70 (2000), S. 1498–1506
- [30] BISHOP, JR ; SCHUKSZ, M ; ESKO, JD: Heparan sulphate proteoglycans fine-tune mammalian physiology. In: *Nature* 446 (2007), S. 1030–1037
- [31] BONE, RC ; BALK, RA ; CERRA, FB ; DELLINGER, RP ; FEIN, AM ; KNAUS, WA ; SCHEIN, RM ; SIBBALD, WJ: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992. In: *Chest* 136 (2009), S. e28
- [32] BÖSCH, F ; THOMAS, M ; KOGLER, P ; OBERHUBER, R ; SUCHER, R ; AIGNER, F ; SEMSROTH, S ; WIEDEMANN, D ; YAMASHITA, K ; TROPPEMAIR, J ; KOTSCH, K ; PRATSCHKE, J ; OLLINGER, R: Bilirubin rinse of the graft ameliorates ischemia reperfusion injury in heart transplantation. In: *Transpl Int* (2014)
- [33] BOVE, AA ; SANTAMORE, WP: Ventricular interdependence. In: *Prog Cardiovasc Dis* 23 (1981), S. 365–388
- [34] BRETSCHNEIDER, H J.: Myocardial protection. In: *Thorac Cardiovasc Surg* 28 (1980), S. 295–302
- [35] BRETSCHNEIDER, HJ ; HÜBNER, G ; KNOLL, D ; LOHR, B ; NORDBECK, H ; SPIECKERMANN, PG: Myocardial resistance and tolerance to ischemia: physiological and biochemical basis. In: *The Journal of cardiovascular surgery* 16 (1975), S. 241–260
- [36] BRODIE, D ; BACCHETTA, M: Extracorporeal membrane oxygenation for ARDS in adults. In: *N Engl J Med* 365 (2011), S. 1905–1914
- [37] BROEKHUIZEN, LN ; MOOIJ, HL ; KASTELEIN, JJP ; STROES, ESG ; VINK, H ; NIEUWDORP, M: Endothelial glycocalyx as potential diagnostic and therapeutic target

6 Literaturverzeichnis

- in cardiovascular disease. In: *Curr Opin Lipidol* 20 (2009), S. 57–62
- [38] BRUEGGER, D ; JACOB, M ; REHM, M ; LOETSCH, M ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; BECKER, BF: Atrial natriuretic peptide induces shedding of endothelial glycocalyx in coronary vascular bed of guinea pig hearts. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289 (2005), S. H1993–9
- [39] BRUEGGER, D ; REHM, M ; JACOB, M ; CHAPPELL, D ; STOECKELHUBER, M ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; BECKER, BF: Exogenous nitric oxide requires an endothelial glycocalyx to prevent postischemic coronary vascular leak in guinea pig hearts. In: *Crit Care* 12 (2008), S. R73
- [40] BRUEGGER, D ; SCHWARTZ, L ; CHAPPELL, D ; JACOB, M ; REHM, M ; VOGESER, M ; CHRIST, F ; REICHART, B ; BECKER, BF: Release of atrial natriuretic peptide precedes shedding of the endothelial glycocalyx equally in patients undergoing on- and off-pump coronary artery bypass surgery. In: *Basic Res Cardiol* 106 (2011), S. 1111–1121
- [41] BUTLER, J E.: Enzyme-linked immunosorbent assay. In: *J Immunoassay* 21 (2000), S. 165–209
- [42] CABRALES, P ; VAZQUEZ, BYS ; TSAI, AG ; INTAGLIETTA, M: Microvascular and capillary perfusion following glycocalyx degradation. In: *J Appl Physiol (1985)* 102 (2007), S. 2251–2259
- [43] CAIN, BS ; MELDRUM, DR ; DINARELLO, CA ; MENG, X ; JOO, KS ; BANERJEE, A ; HARKEN, AH: Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta synergistically depress human myocardial function. In: *Crit Care Med* 27 (1999), S. 1309–1318
- [44] CARRIER, M ; BLAISE, G ; BELISLE, S ; PERRAULT, LP ; PELLERIN, M ; PETIT-CLERC, R ; PELLETIER, LC: Nitric oxide inhalation in the treatment of primary graft failure following heart transplantation. In: *J Heart Lung Transplant* 18 (1999), S. 664–667
- [45] CHAMBERS, R ; ZWEIFACH, BW: Inter cellular cement and capillary permeability. In: *Physiol Rev* 27 (1947), S. 436–463
- [46] CHAPPELL, D ; DORFLER, N ; JACOB, M ; REHM, M ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; BECKER, BF: Glycocalyx protection reduces leukocyte adhesion after ischemia/reperfusion. In: *Shock* 34 (2010), S. 133–139
- [47] CHAPPELL, D ; HEINDL, B ; JACOB, M ; ANNECKE, T ; CHEN, C ; REHM, M ; CONZEN, P ; BECKER, BF: Sevoflurane reduces leukocyte and platelet adhesion after ischemia-reperfusion by protecting the endothelial glycocalyx. In: *Anesthesiology* 115 (2011), S. 483–491
- [48] CHAPPELL, D ; HOFMANN-KIEFER, K ; JACOB, M ; REHM, M ; BRIEGEL, J ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; BECKER, BF: TNF-alpha induced shedding of the endothelial glycocalyx is prevented by hydrocortisone and antithrombin. In: *Basic Res Cardiol* 104 (2009), S. 78–89
- [49] CHAPPELL, D ; JACOB, M ; BECKER, BF ; HOFMANN-KIEFER, K ; CONZEN, P ; REHM, M: Expedition Glykokalyx. Ein neu

6 Literaturverzeichnis

- entdecktes "Great Barrier Reef". In: *Anaesthetist* 57 (2008), S. 959–969
- [50] CHAPPELL, D ; JACOB, M ; HOFMANN-KIEFER, K ; BRUEGGER, D ; REHM, M ; CONZEN, P ; WELSCH, U ; BECKER, BF: Hydrocortisone preserves the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx. In: *Anesthesiology* 107 (2007), S. 776–784
- [51] CHAPPELL, D ; JACOB, M ; HOFMANN-KIEFER, K ; CONZEN, P ; REHM, M: A rational approach to perioperative fluid management. In: *Anesthesiology* 109 (2008), S. 723–740
- [52] CHAPPELL, D ; JACOB, M ; HOFMANN-KIEFER, K ; REHM, M ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; BECKER, BF: Antithrombin reduces shedding of the endothelial glycocalyx following ischaemia/reperfusion. In: *Cardiovasc Res* 83 (2009), S. 388–396
- [53] CHAPPELL, D ; JACOB, M ; PAUL, O ; REHM, M ; WELSCH, U ; STOECKEL-HUBER, M ; CONZEN, P ; BECKER, BF: The glycocalyx of the human umbilical vein endothelial cell: an impressive structure ex vivo but not in culture. In: *Circ Res* 104 (2009), S. 1313–1317
- [54] CHAPPELL, D ; WESTPHAL, M ; JACOB, M: The impact of the glycocalyx on microcirculatory oxygen distribution in critical illness. In: *Curr Opin Anaesthesiol* 22 (2009), S. 155–162
- [55] CHIAVARELLI, R ; MACCHIARELLI, G ; FAMILIARI, G ; CHIAVARELLI, M ; MACCHIARELLI, A ; DEL BASSO, P ; MARINO, B ; MOTTA, PM: Ultrastructural changes of coronary artery endothelium induced by cardioplegic solutions. In: *Thorac Cardiovasc Surg* 37 (1989), S. 151–157
- [56] CHITWOOD, WR J. ; SINK, JD ; HILL, RC ; WECHSLER, AS ; SABISTON, DC J.: The effects of hypothermia on myocardial oxygen consumption and transmural coronary blood flow in the potassium-arrested heart. In: *Ann Surg* 190 (1979), S. 106–116
- [57] CHRISTIANSON, HC ; BELTING, M: Heparan sulfate proteoglycan as a cell-surface endocytosis receptor. In: *Matrix Biol* 35 (2014), S. 51–55
- [58] CIVALERO, LA ; MORENO, JR ; SENNING, A: Temperature conditions and oxygen consumption during deep hypothermia. In: *Acta Chir Scand* 123 (1962), S. 179–188
- [59] COLLINS, GM ; BRAVO-SHUGARMAN, M ; TERASAKI, PI: Kidney preservation for transportation. Initial perfusion and 30 hours' ice storage. In: *Lancet* (1969), Nr. 7632, S. 1219–1222
- [60] COLLINS, SR ; BLANK, RS ; DEATHERAGE, LS ; DULL, RO: Special article: the endothelial glycocalyx: emerging concepts in pulmonary edema and acute lung injury. In: *Anesth Analg* 117 (2013), S. 664–674
- [61] COLVIN-ADAMS, M ; AGNIHOTRI, A: Cardiac allograft vasculopathy: current knowledge and future direction. In: *Clin Transplant* 25 (2011), S. 175–184
- [62] CONSTANTINESCU, AA ; VINK, H ; SPAAN, JA: Elevated capillary tube hematocrit reflects degradation of endothelial cell glycocalyx by oxidized LDL. In: *Am*

6 Literaturverzeichnis

- J Physiol Heart Circ Physiol* 280 (2001), S. H1051–7
- [63] CONSTANTINESCU, AA ; VINK, H ; SPAAN, JA: Endothelial cell glycocalyx modulates immobilization of leukocytes at the endothelial surface. In: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23 (2003), S. 1541–1547
- [64] CORPS, CL ; SHIRES, M ; CRELLIN, D ; SMOLENSKI, R ; POTTS, D ; PRATT, J ; LODGE, JPA: Influence on energy kinetics and histology of different preservation solutions seen during cold ischemia in the liver. In: *Transplant Proc* 41 (2009), S. 4088–4093
- [65] COSIO CARMENA, MG ; GOMEZ BUENO, M ; ALMENAR, L ; DELGADO, JF ; ARIZON, JM ; GONZALEZ VILCHEZ, F ; CRESPO-LEIRO, MG ; MIRABET, S ; ROIG, E ; PEREZ VILLA, F ; FERNANDEZ-YANEZ, JF ; LAMBERT, JL ; MANITO, N ; FUENTE, L ; SANZ JULVE, ML ; PASCUAL, D ; RABAGO, G ; MILLAN, I ; ALONSO-PULPON, LA ; SEGOVIA, J: Primary graft failure after heart transplantation: characteristics in a contemporary cohort and performance of the RADIAL risk score. In: *J Heart Lung Transplant* 32 (2013), S. 1187–1195
- [66] COSTANZO, MR ; DIPCHAND, A ; STARLING, R ; ANDERSON, A ; CHAN, M ; ET al: The International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines for the care of heart transplant recipients. In: *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation* 29 (2010), S. 914–956
- [67] CURRY, FE ; ADAMSON, RH: Endothelial glycocalyx: permeability barrier and mechanosensor. In: *Ann Biomed Eng* 40 (2012), S. 828–839
- [68] DAHL, KI ; KALINOWSKI, A ; PEKKAN, K: Mechanobiology and the microcirculation: cellular, nuclear and fluid mechanics. In: *Microcirculation* 17 (2010), S. 179–191
- [69] D’ALESSANDRO, C ; AUBERT, S ; GOLMARD, JL ; PRASCHKER, BL ; LUYT, CE ; PAVIE, A ; GANDJBAKHCH, I ; LEPRINCE, P: Extra-corporeal membrane oxygenation temporary support for early graft failure after cardiac transplantation. In: *Eur J Cardiothorac Surg* 37 (2010), S. 343–349
- [70] D’ALESSANDRO, C ; GOLMARD, JL ; BARREDA, E ; LAALI, M ; MAKRIS, R ; LUYT, CE ; LEPRINCE, P ; PAVIE, A: Predictive risk factors for primary graft failure requiring temporary extra-corporeal membrane oxygenation support after cardiac transplantation in adults. In: *Eur J Cardiothorac Surg* 40 (2011), S. 962–969
- [71] D’ANCONA, G ; SANTISE, G ; FALLETTA, C ; PIRONE, F ; SCIACCA, S ; TURRISI, M ; BIONDO, D ; PILATO, M: Primary graft failure after heart transplantation: the importance of donor pharmacological management. In: *Transplant Proc* 42 (2010), S. 710–712
- [72] DAVIES, PF: Flow-mediated endothelial mechanotransduction. In: *Physiol Rev* 75 (1995), S. 519–560

6 Literaturverzeichnis

- [73] DAY, AJ ; PRESTWICH, GD: Hyaluronan-binding proteins: tying up the giant. In: *J Biol Chem* 277 (2002), S. 4585–4588
- [74] DE BACKER, D ; CD, Orbegozo ; DONADELLO, K ; VINCENT, JL: Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock. In: *Virulence* 5 (2014), S. 73–79
- [75] DELLINGER, RP ; LEVY, MM ; RHODES, A ; ANNANE, D et a.: Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. In: *Intensive Care Med* 39 (2013), S. 165–228
- [76] DEMMY, TL ; BIDDLE, JS ; BENNETT, LE ; WALLS, JT ; SCHMALTZ, RA ; CURTIS, JJ: Organ preservation solutions in heart transplantation—patterns of usage and related survival. In: *Transplantation* 63 (1997), S. 262–269
- [77] DEMMY, TL ; MAGOVERN, GJ ; KAO, RL: Isolated biventricular working rat heart preparation. In: *Ann Thorac Surg* 54 (1992), S. 915–920
- [78] DI SALVO, TG: Pulmonary hypertension and right ventricular failure in left ventricular systolic dysfunction. In: *Curr Opin Cardiol* 27 (2012), S. 262–272
- [79] DIDIE, M ; BIERMANN, D ; BUCHERT, R ; HESS, A ; WITTKOPPER, K ; CHRISTALLA, P ; DOKER, S ; JEHRAN, F ; SCHONDUBE, F ; REICHENSPURNER, H ; EL-ARMOUCHE, A ; ZIMMERMANN, WH: Preservation of left ventricular function and morphology in volume-loaded versus volume-unloaded heterotopic heart transplants. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 305 (2013), S. H533–41
- [80] DÖRING, HJ ; DEHNERT, H: *Das isolierte perfundierte Warmblüter-Herz nach Langendorff*. Biomesstechnik-Verlag, 1985
- [81] DORNBIERER, M ; STADELMANN, M ; SOURDON, J ; GAHL, B ; COOK, S ; CARREL, TP ; TEVAEARAI, HT ; LONGNUS, SL: Early reperfusion hemodynamics predict recovery in rat hearts: a potential approach towards evaluating cardiac grafts from non-heart-beating donors. In: *PLoS One* 7 (2012), S. e43642
- [82] DRINKWATER, DC ; RUDIS, E ; LAKS, H ; ZIV, E ; MARINO, J ; STEIN, D ; ARDEHALI, A ; AHARON, A ; MORIGUCHI, J ; KOBASHIGAWA, J: University of Wisconsin solution versus Stanford cardioplegic solution and the development of cardiac allograft vasculopathy. In: *J Heart Lung Transplant* 14 (1995), S. 891–896
- [83] ELTZSCHIG, HK ; CARMELIET, P: Hypoxia and inflammation. In: *N Engl J Med* 364 (2011), S. 656–665
- [84] ELTZSCHIG, HK ; ZWISSLER, B ; FELLINGER, TW: Perioperative Aspekte der Herztransplantation. In: *Anaesthesist* 52 (2003), S. 678–689
- [85] ESKENS, BJM ; ZUURBIER, CJ ; HAARE, J van ; VINK, H ; TEEFFELEN, JWGE van: Effects of two weeks of metformin treatment on whole-body glycocalyx barrier properties in db/db mice. In: *Cardiovasc Diabetol* 12 (2013), S. 175

6 Literaturverzeichnis

- [86] ESKO, JD ; SELLECK, SB: Order out of chaos: assembly of ligand binding sites in heparan sulfate. In: *Annu Rev Biochem* 71 (2002), S. 435–471
- [87] FERDINANDY, P ; PANAS, D ; SCHULZ, R: Peroxynitrite contributes to spontaneous loss of cardiac efficiency in isolated working rat hearts. In: *Am J Physiol* 276 (1999), S. H1861–7
- [88] FLOERCHINGER, B ; OBERHUBER, R ; TULLIUS, SG: Effects of brain death on organ quality and transplant outcome. In: *Transplant Rev (Orlando)* 26 (2012), S. 54–59
- [89] FLORIAN, JA ; KOSKY, JR ; AINSLIE, K ; PANG, Z ; DULL, RO ; TARBELL, JM: Heparan sulfate proteoglycan is a mechanosensor on endothelial cells. In: *Circ Res* 93 (2003), S. e136–42
- [90] FORKEL, J ; CHEN, X ; WANDINGER, S ; KESER, F ; DUSCHIN, A ; SCHWANKE, U ; FREDE, S ; MASSOUDY, P ; SCHULZ, R ; JAKOB, H ; HEUSCH, G: Responses of chronically hypoxic rat hearts to ischemia: KATP channel blockade does not abolish increased RV tolerance to ischemia. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286 (2004), S. H545–51
- [91] FRANK, A ; BONNEY, M ; BONNEY, S ; WEITZEL, L ; KOEPPEN, M ; ECKLE, T: Myocardial ischemia reperfusion injury: from basic science to clinical bedside. In: *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 16 (2012), S. 123–132
- [92] GALINANES, M ; MURASHITA, T ; HEARSE, DJ: Long-term hypothermic storage of the mammalian heart for transplantation: a comparison of three cardioplegic solutions. In: *J Heart Lung Transplant* 11 (1992), S. 624–635
- [93] GALLEGOS, RP: Animal Models for Cardiac Research. In: IAIZZO, Paul A. (Hrsg.): *Handbook of cardiac anatomy, physiology, and devices*. Springer, 2009, Kap. 21, S. 287–301
- [94] GALLEY, HF ; WEBSTER, NR: Physiology of the endothelium. In: *Br J Anaesth* 93 (2004), S. 105–113
- [95] GEORGE, TJ ; ARNAOUTAKIS, GJ ; BAUMGARTNER, WA ; SHAH, AS ; CONTE, JV: Organ storage with University of Wisconsin solution is associated with improved outcomes after orthotopic heart transplantation. In: *J Heart Lung Transplant* 30 (2011), S. 1033–1043
- [96] GILLES, S ; ZAHLER, S ; WELSCH, U ; SOMMERHOFF, CP ; BECKER, BF: Release of TNF-alpha during myocardial reperfusion depends on oxidative stress and is prevented by mast cell stabilizers. In: *Cardiovasc Res* 60 (2003), S. 608–616
- [97] GOUVERNEUR, M ; SPAAN, JAE ; PANNEKOEK, H ; FONTIJN, RD ; VINK, H: Fluid shear stress stimulates incorporation of hyaluronan into endothelial cell glycocalyx. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290 (2006), S. H458–2
- [98] GRIEPP, RB ; STINSON, EB ; DONG, E J. ; CLARK, DA ; SHUMWAY, NE: Determinants of operative risk in human heart transplantation. In: *Am J Surg* 122 (1971), S. 192–197

6 Literaturverzeichnis

- [99] GRUNDMANN, S ; FINK, K ; RABADZHEVA, L ; BOURGEOIS, N ; SCHWAB, T ; MOSER, M ; BODE, C ; BUSCH, HJ: Perturbation of the endothelial glycocalyx in post cardiac arrest syndrome. In: *Resuscitation* 83 (2012), S. 715–720
- [100] GUYTON, AC ; LINDSEY, AW ; GILLULY, JJ: The limits of right ventricular compensation following acute increase in pulmonary circulatory resistance. In: *Circ Res* 2 (1954), S. 326–332
- [101] HAN, JC ; GOO, S ; BARRETT, CJ ; MEL-LOR, KM ; TABERNER, AJ ; LOISELLE, DS: The afterload-dependent peak efficiency of the isolated working rat heart is unaffected by streptozotocin-induced diabetes. In: *Cardiovasc Diabetol* 13 (2014), S. 4
- [102] HANEMAAIJER, R ; KOOLWIJK, P ; CLERCQ, L le ; VREE, W J. de ; HINSBERGH, V W. van: Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vein and microvascular endothelial cells. Effects of tumour necrosis factor alpha, interleukin 1 and phorbol ester. In: *Biochem J* 296 (Pt 3) (1993), S. 803–809
- [103] HARJULA, A ; MATTILA, S ; MATTILA, I ; HARKONEN, M ; MYLLARNIEMI, H ; NICKELS, J ; MERIKALLIO, E: Coronary endothelial damage after crystalloid cardioplegia. In: *J Cardiovasc Surg (Torino)* 25 (1984), S. 147–152
- [104] HASHIMOTO, K ; PEARSON, P J. ; SCHAFF, H V. ; CARTIER, R: Endothelial cell dysfunction after ischemic arrest and reperfusion: a possible mechanism of myocardial injury during reflow. In: *J Thorac Cardiovasc Surg* 102 (1991), S. 688–694
- [105] HECKER, M ; MULSCH, A ; BASSENGE, E ; BUSSE, R: Vasoconstriction and increased flow: two principal mechanisms of shear stress-dependent endothelial autacoid release. In: *Am J Physiol* 265 (1993), S. H828–33
- [106] HENRY, CB ; DULING, BR: Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. In: *Am J Physiol* 277 (1999), S. H508–14
- [107] HENRY, CB ; DULING, BR: TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279 (2000), S. H2815–23
- [108] HOFMANN-KIEFER, KF ; KNABL, J ; MARTINOFF, N ; SCHIESSL, B ; CONZEN, P ; REHM, M ; BECKER, BF ; CHAPPELL, D: Increased serum concentrations of circulating glycocalyx components in HELLP syndrome compared to healthy pregnancy: an observational study. In: *Reprod Sci* 20 (2013), S. 318–325
- [109] HUMAN, PA ; HOLL, J ; VOSLOO, S ; HEWITSON, J ; BRINK, JG ; REICHENSPURNER, H ; BOEHM, D ; ROSE, AG ; ODELL, JA ; REICHART, B: Extended cardiopulmonary preservation: University of Wisconsin solution versus Bretschneider's cardioplegic solution. In: *Ann Thorac Surg* 55 (1993), S. 1123–1130
- [110] HUNTER, JD ; DODDI, M: Sepsis and the heart. In: *Br J Anaesth* 104 (2010), S. 3–11
- [111] IBRAHIM, M ; AL MASRI, A ; NAVARATNARAJAH, M ; SIEDLECKA, U ; SOPPA,

6 Literaturverzeichnis

- GK ; MOSHKOV, A ; AL-SAUD, SA ; GORELIK, J ; YACOB, MH ; TERRACCIANO, CMN: Prolonged mechanical unloading affects cardiomyocyte excitation-contraction coupling, transverse-tubule structure, and the cell surface. In: *FASEB J* 24 (2010), S. 3321–3329
- [112] ILAN, N ; ELKIN, M ; VLODAVSKY, I: Regulation, function and clinical significance of heparanase in cancer metastasis and angiogenesis. In: *Int J Biochem Cell Biol* 38 (2006), S. 2018–2039
- [113] ITANO, N: Simple primary structure, complex turnover regulation and multiple roles of hyaluronan. In: *J Biochem* 144 (2008), S. 131–137
- [114] ITANO, N ; KIMATA, K: Mammalian hyaluronan synthases. In: *IUBMB Life* 54 (2002), S. 195–199
- [115] IYER, A ; KUMARASINGHE, G ; HICKS, M ; WATSON, A ; GAO, L ; DOYLE, A ; KEOGH, A ; KOTLYAR, E ; HAYWARD, C ; DHITAL, K ; GRANGER, E ; JANSZ, P ; PYE, R ; SPRATT, P ; MACDONALD, PS: Primary graft failure after heart transplantation. In: *J Transplant* 2011 (2011)
- [116] JACKSON, RL ; BUSCH, SJ ; CARDIN, AD: Glycosaminoglycans: molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes. In: *Physiol Rev* 71 (1991), S. 481–539
- [117] JACOB, M ; BRUEGGER, D ; REHM, M ; STOECKELHUBER, M ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; BECKER, BF: The endothelial glycocalyx affords compatibility of Starling's principle and high cardiac interstitial albumin levels. In: *Cardiovasc Res* 73 (2007), S. 575–586
- [118] JACOB, M ; BRUEGGER, D ; REHM, M ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; BECKER, BF: Contrasting effects of colloid and crystalloid resuscitation fluids on cardiac vascular permeability. In: *Anesthesiology* 104 (2006), S. 1223–1231
- [119] JACOB, M ; CHAPPELL, D: Reappraising Starling: the physiology of the microcirculation. In: *Curr Opin Crit Care* 19 (2013), S. 282–289
- [120] JACOB, M ; CHAPPELL, D ; REHM, M: Clinical update: perioperative fluid management. In: *Lancet* 369 (2007), S. 1984–1986
- [121] JACOB, M ; PAUL, O ; MEHRINGER, L ; CHAPPELL, D ; REHM, M ; WELSCH, U ; KACZMAREK, I ; CONZEN, P ; BECKER, BF: Albumin augmentation improves condition of guinea pig hearts after 4 hr of cold ischemia. In: *Transplantation* 87 (2009), S. 956–965
- [122] JACOB, M ; REHM, M ; LOETSCH, M ; PAUL, JO ; BRUEGGER, D ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; BECKER, BF: The endothelial glycocalyx prefers albumin for evoking shear stress-induced, nitric oxide-mediated coronary dilatation. In: *J Vasc Res* 44 (2007), S. 435–443
- [123] JACOBS, S ; REGA, F ; MEYNS, B: Current preservation technology and future prospects of thoracic organs. Part 2: heart. In: *Curr Opin Organ Transplant* 15 (2010), S. 156–159

6 Literaturverzeichnis

- [124] JAHANIA, MS ; SANCHEZ, JA ; NARAYAN, P ; LASLEY, RD ; MENTZER, RM J.: Heart preservation for transplantation: principles and strategies. In: *Ann Thorac Surg* 68 (1999), S. 1983–1987
- [125] JENNINGS, RB ; SOMMERS, HM ; SMYTH, GA ; FLACK, HA ; LINN, H: Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. In: *Arch Pathol* 70 (1960), S. 68–78
- [126] JIN, L ; ABRAHAMS, JP ; SKINNER, R ; PETITOU, M ; PIKE, RN ; CARRELL, RW: The anticoagulant activation of antithrombin by heparin. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 94 (1997), S. 14683–14688
- [127] JOHANSSON, PI ; SORENSSEN, AM ; PERNER, A ; WELLING, KL ; WANSCHER, M ; LARSEN, CF ; OSTROWSKI, SR: High sCD40L levels early after trauma are associated with enhanced shock, sympathoadrenal activation, tissue and endothelial damage, coagulopathy and mortality. In: *J Thromb Haemost* 10 (2012), S. 207–216
- [128] JOHANSSON, PI ; STENSALLE, J ; RASMUSSEN, LS ; OSTROWSKI, SR: A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients. In: *Ann Surg* 254 (2011), S. 194–200
- [129] KATZ, AM: The working heart. In: *Physiology of the Heart*. Lippincott Williams & Wilkins, 2011, S. 313–342
- [130] KELM, M ; SCHRADER, J: Nitric oxide release from the isolated guinea pig heart. In: *Eur J Pharmacol* 155 (1988), S. 317–321
- [131] KITTLESON, MM ; KOBASHIGAWA, JA: Management of the ACC/AHA Stage D patient: cardiac transplantation. In: *Cardiol Clin* 32 (2014), S. 95–112
- [132] KJELLEN, L ; LINDAHL, U: Proteoglycans: structures and interactions. In: *Annu Rev Biochem* 60 (1991), S. 443–475
- [133] KLEIN, I ; HONG, C ; SCHREIBER, SS: Cardiac atrophy in the heterotopically transplanted rat heart: in vitro protein synthesis. In: *J Mol Cell Cardiol* 22 (1990), S. 461–468
- [134] KOLAR, F ; OSTADAL, B: Right ventricular function in rats with hypoxic pulmonary hypertension. In: *Pflugers Arch* 419 (1991), S. 121–126
- [135] KOLLEF, MH ; SCHUSTER, DP: The acute respiratory distress syndrome. In: *N Engl J Med* 332 (1995), S. 27–37
- [136] KUPATT, C ; HABAZETTL, H ; GOEDECKE, A ; WOLF, DA ; ZAHLER, S ; BOEKSTEGERS, P ; KELLY, RA ; BECKER, BF: Tumor necrosis factor-alpha contributes to ischemia- and reperfusion-induced endothelial activation in isolated hearts. In: *Circ Res* 84 (1999), S. 392–400
- [137] KUR, F ; BEIRAS-FERNANDEZ, A ; MEISER, B ; UBERFUHR, P ; REICHART, B: Clinical heart transplantation with extended preservation time (>5 hours): experience with University of Wisconsin solution. In: *Transplant Proc* 41 (2009), S. 2247–2249

6 Literaturverzeichnis

- [138] LANDIS, EM: Micro-injection studies of capillary permeability II. The relation between capillary pressure and the rate at which fluid passes through the walls of single capillaries. In: *American Journal of Physiology* 82 (1927), S. 217–238
- [139] LANDIS, EM ; PAPPENHEIMER, JR: Exchange of substances through the capillary walls. In: HAMILTON, WF (Hrsg.) ; DOW, P (Hrsg.): *Handbook of physiology*. Washington, DC: American Physiological Society, 1963, S. 961–1034
- [140] LANGENDORFF, O: Untersuchungen am überlebenden Säugethierherzen. In: *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 61 (1895), S. 291–332
- [141] LAURENT, TC ; FRASER, JR: Hyaluronan. In: *FASEB J* 6 (1992), S. 2397–2404
- [142] LEE, JY ; SPICER, AP: Hyaluronan: a multifunctional, megaDalton, stealth molecule. In: *Curr Opin Cell Biol* 12 (2000), S. 581–586
- [143] LEVICK, JR: Capillary filtration-absorption balance reconsidered in light of dynamic extravascular factors. In: *Exp Physiol* 76 (1991), S. 825–857
- [144] LEVICK, JR: Revision of the Starling principle: new views of tissue fluid balance. In: *J Physiol* 557 (2004), S. 704
- [145] LEVICK, JR ; MICHEL, C: Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. In: *Cardiovasc Res* 87 (2010), S. 198–210
- [146] LEVY-ADAM, F ; ABBOUD-JARROUS, G ; GUERRINI, M ; BECCATI, D ; VLODAVSKY, I ; ILAN, N: Identification and characterization of heparin/heparan sulfate binding domains of the endoglycosidase heparanase. In: *J Biol Chem* 280 (2005), S. 20457–20466
- [147] LIAO, KK ; BOLMAN, RM3rd: Operative techniques in orthotopic heart transplantation. In: *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 16 (2004), S. 370–377
- [148] LIETZ, K ; JOHN, R ; MANCINI, DM ; EDWARDS, NM: Outcomes in cardiac transplant recipients using allografts from older donors versus mortality on the transplant waiting list; Implications for donor selection criteria. In: *J Am Coll Cardiol* 43 (2004), S. 1553–1561
- [149] LINDNER, JR ; ISMAIL, S ; SPOTNITZ, WD ; SKYBA, DM ; JAYAWEEA, AR ; KAUL, S: Albumin microbubble persistence during myocardial contrast echocardiography is associated with microvascular endothelial glycocalyx damage. In: *Circulation* 98 (1998), S. 2187–2194
- [150] LIPOWSKY, HH: The endothelial glycocalyx as a barrier to leukocyte adhesion and its mediation by extracellular proteases. In: *Ann Biomed Eng* 40 (2012), S. 840–848
- [151] LIPOWSKY, HH ; LESCANIC, A: The effect of doxycycline on shedding of the glycocalyx due to reactive oxygen species. In: *Microvasc Res* 90 (2013), S. 80–85
- [152] LISTIJONO, DR ; WATSON, A ; PYE, R ; KEOGH, AM ; KOTLYAR, E ; SPRATT, P ; GRANGER, E ; DHITAL, K ; JANSZ, P ;

6 Literaturverzeichnis

- MACDONALD, PS ; HAYWARD, CS: Usefulness of extracorporeal membrane oxygenation for early cardiac allograft dysfunction. In: *J Heart Lung Transplant* 30 (2011), S. 783–789
- [153] LOWER, RR ; SHUMWAY, NE: Studies on orthotopic homotransplantation of the canine heart. In: *Surg Forum* 11 (1960), S. 18–19
- [154] LOWER, RR ; STOFER, RC ; HURLEY, E J. ; DONG, E J. ; COHN, RB ; SHUMWAY, NE: Successful homotransplantation of the canine heart after anoxic preservation for seven hours. In: *Am J Surg* 104 (1962), S. 302–306
- [155] LOWER, RR ; STOFER, RC ; SHUMWAY, NE: Homovital transplantation of the heart. In: *J Thorac Cardiovasc Surg* 41 (1961), S. 196–204
- [156] LUFT, JH: Fine structures of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. In: *Fed Proc* 25 (1966), S. 1773–1783
- [157] LUND, LH ; EDWARDS, LB ; KUCHERYAVAYA, AY ; DIPCHAND, AI ; BENDEN, C ; CHRISTIE, JD ; DOBBELS, F ; KIRK, R ; RAHMEL, AO ; YUSEN, RD ; STEHLIK, J: The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirtieth official adult heart transplant report–2013; focus theme: age. In: *J Heart Lung Transplant* 32 (2013), S. 951–964
- [158] MAATHUIS, MHJ ; LEUVENINK, HGD ; PLOEG, RJ: Perspectives in organ preservation. In: *Transplantation* 83 (2007), S. 1289–1298
- [159] MAHER, B: Tissue engineering: How to build a heart. In: *Nature* 499 (2013), S. 20–22
- [160] MANKAD, P ; YACoub, M: Influence of basal release of nitric oxide on systolic and diastolic function of both ventricles. In: *J Thorac Cardiovasc Surg* 113 (1997), S. 770–776
- [161] MANKAD, P S. ; AMRANI, M ; ROTHERY, S ; SEVERS, N J. ; YACoub, M H.: Relative susceptibility of endothelium and myocardial cells to ischaemia-reperfusion injury. In: *Acta Physiol Scand* 161 (1997), S. 103–112
- [162] MARASCO, SF ; ESMORE, DS ; NEGRI, J ; ROWLAND, M ; NEWCOMB, A ; ROSENFELDT, FL ; BAILEY, M ; RICHARDSON, M: Early institution of mechanical support improves outcomes in primary cardiac allograft failure. In: *J Heart Lung Transplant* 24 (2005), S. 2037–2042
- [163] MARASCO, SF ; VALE, M ; PELLEGRINO, V ; PREVOLOS, A ; LEET, A ; KRAS, A ; SCHULBERG, E ; BERGIN, P ; ESMORE, DS: Extracorporeal membrane oxygenation in primary graft failure after heart transplantation. In: *Ann Thorac Surg* 90 (2010), S. 1541–1546
- [164] MARECHAL, X ; FAVORY, R ; JOULIN, O ; MONTAIGNE, D ; HASSOUN, S ; DECOSTER, B ; ZERIMECH, F ; NEVIERE, R: Endothelial glycocalyx damage during endotoxemia coincides with microcirculatory dysfunction and vascular oxidative stress. In: *Shock* 29 (2008), S. 572–576

6 Literaturverzeichnis

- [165] McMURRAY, JJV ; ADAMOPOULOS, S ; ANKER, SD ; AURICCHIO, A ; ET al: ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. In: *Eur Heart J* 33 (2012), S. 1787–1847
- [166] MEGENS, RTA ; REITSMA, S ; SCHIFFERS, PHM ; HILGERS, RHP ; DE MEY, JGR ; SLAAF, DW ; OUDE EGBRINK, MGA ; ZANDVOORT, MAMJ van: Two-photon microscopy of vital murine elastic and muscular arteries. Combined structural and functional imaging with subcellular resolution. In: *J Vasc Res* 44 (2007), S. 87–98
- [167] MEISER, BM ; SCHEIDT, W von ; WEIS, M ; BOHM, D ; KUR, F ; KOGLIN, J ; REICHENSPURNER, H ; UBERFUHR, P ; REICHART, B: Heart transplantation–state of the art today. In: *Herz* 22 (1997), S. 237–252
- [168] MEUWESE, MC ; MOOIJ, HL ; NIEUW-DORP, M ; LITH, B van ; MARCK, R ; VINK, H ; KASTELEIN, JJP ; STROES, ESG: Partial recovery of the endothelial glycocalyx upon rosuvastatin therapy in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. In: *J Lipid Res* 50 (2009), S. 148–153
- [169] MICHEL, CC: Starling: the formulation of his hypothesis of microvascular fluid exchange and its significance after 100 years. In: *Exp Physiol* 82 (1997), S. 1–30
- [170] MINIATI, DN ; ROBBINS, RC: Oxidative stress and graft coronary artery disease: Early factors contributing to late outcomes. In: *Transplantation Reviews* 15 (2001), S. 102–108
- [171] MOBERT, J ; BECKER, BF ; ZAHLER, S ; GERLACH, E: Hemodynamic effects of isoprostanes (8-iso-prostaglandin F₂α and E₂) in isolated guinea pig hearts. In: *J Cardiovasc Pharmacol* 29 (1997), S. 789–794
- [172] MOSTERD, Arend ; HOES, Arno W.: Clinical epidemiology of heart failure. In: *Heart* 93 (2007), S. 1137–1146
- [173] MUHLBACHER, F ; LANGER, F ; MITTERMAYER, C: Preservation solutions for transplantation. In: *Transplant Proc* 31 (1999), S. 2069–2070
- [174] MULIVOR, AW ; LIPOWSKY, HH: Role of glycocalyx in leukocyte-endothelial cell adhesion. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283 (2002), S. H1282–91
- [175] MULIVOR, AW ; LIPOWSKY, HH: Inflammation- and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286 (2004), S. H1672–80
- [176] MULIVOR, AW ; LIPOWSKY, HH: Inhibition of glycan shedding and leukocyte-endothelial adhesion in postcapillary venules by suppression of matrixmetalloprotease activity with doxycycline. In: *Microcirculation* 16 (2009), S. 657–666
- [177] MULLER, WA: Mechanisms of leukocyte transendothelial migration. In: *Annu Rev Pathol* 6 (2011), S. 323–344
- [178] MURASHITA, T ; KEMPSFORD, RD ; HEARSE, DJ: Oxygen supply and oxygen demand in the isolated working rabbit heart perfused with asanguineous crystalloid solution. In: *Cardiovasc Res* 25 (1991), S. 198–206

6 Literaturverzeichnis

- [179] MURPHY, CO ; PAN-CHIH ; GOTT, JP ; GUYTON, RA: Microvascular reactivity after crystalloid, cold blood, and warm blood cardioplegic arrest. In: *Ann Thorac Surg* 60 (1995), S. 1021–1027
- [180] MURRY, CE ; JENNINGS, RB ; REIMER, KA: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. In: *Circulation* 74 (1986), S. 1124–1136
- [181] NANDI, A ; ESTESS, P ; SIEGELMAN, MH: Hyaluronan anchoring and regulation on the surface of vascular endothelial cells is mediated through the functionally active form of CD44. In: *J Biol Chem* 275 (2000), S. 14939–14948
- [182] NEELY, JR ; LIEBERMEISTER, H ; BATTERSBY, EJ ; MORGAN, HE: Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat heart. In: *Am J Physiol* 212 (1967), S. 804–814
- [183] NELSON, A ; BERKESTEDT, I ; BODELSSON, M: Circulating glycosaminoglycan species in septic shock. In: *Acta Anaesthesiol Scand* 58 (2014), S. 36–43
- [184] NELSON, A ; BERKESTEDT, I ; SCHMIDTCHEN, A ; LJUNGGREN, L ; BODELSSON, M: Increased levels of glycosaminoglycans during septic shock: relation to mortality and the antibacterial actions of plasma. In: *Shock* 30 (2008), S. 623–627
- [185] NIEUWDORP, M ; HAEFTEN, TW van ; GOUVERNEUR, MLG ; MOOIJ, HL ; LIESHOUT, MHP van ; LEVI, M ; MEIJERS, JCM ; HOLLEMAN, F ; HOEKSTRA, JBL ; VINK, H ; KASTELEIN, JJP ; STROES, ESG: Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo. In: *Diabetes* 55 (2006), S. 480–486
- [186] NIEUWDORP, M ; HOLLEMAN, F ; GROOT, E de ; VINK, H ; GORT, J ; KONTUSH, A ; CHAPMAN, MJ ; HUTTEN, B A. ; BROUWER, CB ; HOEKSTRA, JBL ; KASTELEIN, JJP ; STROES, ESG: Perturbation of hyaluronan metabolism predisposes patients with type 1 diabetes mellitus to atherosclerosis. In: *Diabetologia* 50 (2007), S. 1288–1293
- [187] NIEUWDORP, M ; MEUWESE, MC ; MOOIJ, HL ; LIESHOUT, MHP van ; HAYDEN, A ; LEVI, M ; MEIJERS, JCM ; INCE, C ; KASTELEIN, JJP ; VINK, H ; STROES, ESG: Tumor necrosis factor- α inhibition protects against endotoxin-induced endothelial glycocalyx perturbation. In: *Atherosclerosis* 202 (2009), S. 296–303
- [188] NIEUWDORP, M ; MEUWESE, MC ; VINK, H ; HOEKSTRA, JBL ; KASTELEIN, JJP ; STROES, ESG: The endothelial glycocalyx: a potential barrier between health and vascular disease. In: *Curr Opin Lipidol* 16 (2005), S. 507–511
- [189] NOBLE, MIM ; DRAKE-HOLLAND, AJ ; VINK, H: Hypothesis: arterial glycocalyx dysfunction is the first step in the atherothrombotic process. In: *QJM* 101 (2008), S. 513–518
- [190] NOVITZKY, D ; RHODIN, J ; COOPER, DK ; YE, Y ; MIN, KW ; DEBAULT, L: Ultrastructure changes associated with brain death in the human donor heart. In: *Transpl Int* 10 (1997), S. 24–32

6 Literaturverzeichnis

- [191] NUSSBAUM, C ; CAVALCANTI FERNANDES HERING, A ; MORMANOVA, Z ; PUCHWEIN-SCHWEPCKE, AF ; BECHTOLD-DALLA POZZA, S ; GENZEL-BOROVICZENY, O: Early microvascular changes with loss of the glycocalyx in children with type 1 diabetes. In: *J Pediatr* 164 (2014), S. 584–589
- [192] ONO, K ; LINDSEY, ES: Improved technique of heart transplantation in rats. In: *J Thorac Cardiovasc Surg* 57 (1969), S. 225–229
- [193] OSTROWSKI, SR ; BERG, RMG ; WINDELOV, NA ; MEYER, MAS ; PLOVSING, RR ; MOLLER, K ; JOHANSSON, PI: Coagulopathy, catecholamines, and biomarkers of endothelial damage in experimental human endotoxemia and in patients with severe sepsis: a prospective study. In: *J Crit Care* 28 (2013), S. 586–596
- [194] OSTROWSKI, SR ; JOHANSSON, PI: Endothelial glycocalyx degradation induces endogenous heparinization in patients with severe injury and early traumatic coagulopathy. In: *J Trauma Acute Care Surg* 73 (2012), S. 60–66
- [195] OSTROWSKI, SR ; PEDERSEN, SH ; JENSEN, JS ; MOGELVANG, R ; JOHANSSON, PI: Acute myocardial infarction is associated with endothelial glycocalyx and cell damage and a parallel increase in circulating catecholamines. In: *Crit Care* 17 (2013), S. R32
- [196] OSTROWSKI, SR ; SORENSSEN, AM ; WINDELOV, NA ; PERNER, A ; WELLING, KL ; WANSCHER, M ; LARSEN, CF ; JOHANSSON, PI: High levels of soluble VEGF receptor 1 early after trauma are associated with shock, sympathoadrenal activation, glycocalyx degradation and inflammation in severely injured patients: a prospective study. In: *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 20 (2012), S. 27
- [197] PAHAKIS, MY ; KOSKY, JR ; DULL, RO ; TARBELL, JM: The role of endothelial glycocalyx components in mechanotransduction of fluid shear stress. In: *Biochem Biophys Res Commun* 355 (2007), S. 228–233
- [198] PAROLARI, A ; RUBINI, P ; CANNATA, A ; BONATI, L ; ALAMANNI, F ; TREMOLI, E ; BIGLIOLI, P: Endothelial damage during myocardial preservation and storage. In: *Ann Thorac Surg* 73 (2002), S. 682–690
- [199] PEARL, JM ; LAKS, H ; DRINKWATER, DC ; SORENSSEN, TJ ; CHANG, P ; AHARON, AS ; BYRNS, RE ; IGNARRO, LJ: Loss of endothelium-dependent vasodilatation and nitric oxide release after myocardial protection with University of Wisconsin solution. In: *J Thorac Cardiovasc Surg* 107 (1994), S. 257–264
- [200] PEREZ LOPEZ, S ; OTERO HERNANDEZ, J ; VAZQUEZ MORENO, N ; ESCUDERO AUGUSTO, D ; ALVAREZ MENENDEZ, F ; ASTUDILLO GONZALEZ, A: Brain death effects on catecholamine levels and subsequent cardiac damage assessed in organ donors. In: *J Heart Lung Transplant* 28 (2009), S. 815–820
- [201] POSTRACH, J ; BAUER, A ; SCHMOECKEL, M ; REICHART, B ;

6 Literaturverzeichnis

- BRENNER, P: Heart xenotransplantation in primate models. In: *Methods Mol Biol* 885 (2012), S. 155–168
- [202] POTTER, DR ; DAMIANO, ER: The hydrodynamically relevant endothelial cell glycocalyx observed in vivo is absent in vitro. In: *Circ Res* 102 (2008), S. 770–776
- [203] POTTER, DR ; JIANG, J ; DAMIANO, ER: The recovery time course of the endothelial cell glycocalyx in vivo and its implications in vitro. In: *Circ Res* 104 (2009), S. 1318–1325
- [204] PRIES, AR ; KUEBLER, WM: Normal endothelium. In: MONCADA, Salvador (Hrsg.) ; HIGGS, Annie (Hrsg.): *The Vascular Endothelium* Bd. I. Springer Berlin Heidelberg, 2006, S. 1–40
- [205] PRIES, AR ; SECOMB, TW ; GAEHTGENS, P: The endothelial surface layer. In: *Pflügers Arch* 440 (2000), S. 653–666
- [206] PRIES, AR ; SECOMB, TW ; JACOBS, H ; SPERANDIO, M ; OSTERLOH, K ; GAEHTGENS, P: Microvascular blood flow resistance: role of endothelial surface layer. In: *Am J Physiol* 273 (1997), S. H2272–9
- [207] PRIES, AR ; SECOMB, TW ; SPERANDIO, M ; GAEHTGENS, P: Blood flow resistance during hemodilution: effect of plasma composition. In: *Cardiovasc Res* 37 (1998), S. 225–235
- [208] RAMAN, R ; SASISEKHARAN, V ; SASISEKHARAN, R: Structural insights into biological roles of protein-glycosaminoglycan interactions. In: *Chem Biol* 12 (2005), S. 267–277
- [209] RAPRAEGER, AC ; KRUFKA, A ; OLWIN, BB: Requirement of heparan sulfate for bFGF-mediated fibroblast growth and myoblast differentiation. In: *Science* 252 (1991), S. 1705–1708
- [210] REHM, M ; BRUEGGER, D ; CHRIST, F ; CONZEN, P ; THIEL, M ; JACOB, M ; CHAPPELL, D ; STOECKELHUBER, M ; WELSCH, U ; REICHART, B ; PETER, K ; BECKER, BF: Shedding of the endothelial glycocalyx in patients undergoing major vascular surgery with global and regional ischemia. In: *Circulation* 116 (2007), S. 1896–1906
- [211] REHM, M ; HALLER, M ; ORTH, V ; KREIMEIER, U ; JACOB, M ; DRESSEL, H ; MAYER, S ; BRECHTELSBAUER, H ; FINSTERER, U: Changes in blood volume and hematocrit during acute preoperative volume loading with 5% albumin or 6% hetastarch solutions in patients before radical hysterectomy. In: *Anesthesiology* 95 (2001), S. 849–856
- [212] REHM, M ; ZAHLER, S ; LOTSCH, M ; WELSCH, U ; CONZEN, P ; JACOB, M ; BECKER, BF: Endothelial glycocalyx as an additional barrier determining extravasation of 6% hydroxyethyl starch or 5% albumin solutions in the coronary vascular bed. In: *Anesthesiology* 100 (2004), S. 1211–1223
- [213] REICHART, B ; GUETHOFF, S ; MAYR, T ; THORMANN, M ; BUCHHOLZ, S ; POSTRACH, J ; AYARES, D ; ELLIOTT, RB ; TAN, P ; KIND, A ; HAGL, C ; BRENNER, P ; ABICHT, JM: Discordant cardiac

6 Literaturverzeichnis

- xenotransplantation: broadening the horizons. In: *Eur J Cardiothorac Surg* 45 (2014), S. 1–5
- [214] REICHENSPURNER, H ; RUSS, C ; UBERFUHR, P ; NOLLERT, G ; SCHLUTER, A ; REICHART, B ; KLOVEKORN, WP ; SCHULLER, S ; HETZER, R ; BRETT, W: Myocardial preservation using HTK solution for heart transplantation. A multicenter study. In: *Eur J Cardiothorac Surg* 7 (1993), S. 414–419
- [215] REIDEMEISTER, JC ; HEBERER, G ; BRETSCHNEIDER, HJ: Induced cardiac arrest by sodium and calcium depletion and application of procaine. In: *Int Surg* 47 (1967), S. 535–540
- [216] REITSMA, S ; OUDE EGBRINK, MGA ; HEIJNEN, VVT ; MEGENS, RTA ; ENGELS, W ; VINK, H ; SLAAF, DW ; ZANDVOORT, MAMJ van: Endothelial glycocalyx thickness and platelet-vessel wall interactions during atherogenesis. In: *Thromb Haemost* 106 (2011), S. 939–946
- [217] REITSMA, S ; SLAAF, DW ; VINK, H ; ZANDVOORT, MAMJ van ; EGBRINK, MGA oude: The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. In: *Pflugers Arch* 454 (2007), S. 345–359
- [218] RUBANYI, GM ; ROMERO, JC ; VANHOUTTE, PM: Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. In: *Am J Physiol* 250 (1986), S. H1145–9
- [219] RUBIO-GAYOSSO, I ; PLATTS, SH ; DULING, BR: Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290 (2006), S. H2247–56
- [220] RUSSO, MJ ; IRIBARNE, A ; HONG, KN ; RAMLAWI, B ; CHEN, JM ; TAKAYAMA, H ; MANCINI, DM ; NAKA, Y: Factors associated with primary graft failure after heart transplantation. In: *Transplantation* 90 (2010), S. 444–450
- [221] SAITOH, Y ; H, Michio ; KU, K ; KIN, S ; NOSAKA, S ; MASUMURA, S ; NAKAYAMA, K: Heart preservation in HTK solution: role of coronary vasculature in recovery of cardiac function. In: *The Annals of thoracic surgery* 69 (2000), S. 107–112
- [222] SALLISALMI, M ; TENHUNEN, J ; YANG, R ; OKSALA, N ; PETTILA, V: Vascular adhesion protein-1 and syndecan-1 in septic shock. In: *Acta Anaesthesiol Scand* 56 (2012), S. 316–322
- [223] SANTAMORE, WP ; DELL'ITALIA, LJ: Ventricular interdependence: significant left ventricular contributions to right ventricular systolic function. In: *Prog Cardiovasc Dis* 40 (1998), S. 289–308
- [224] SANTISE, G ; D'ANCONA, G ; FALLETTA, C ; PIRONE, F ; SCIACCA, S ; TURRISI, D ; PILATO, M: Donor pharmacological hemodynamic support is associated with primary graft failure in human heart transplantation. In: *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 9 (2009), S. 476–479
- [225] SCHLESSINGER, J ; PLOTNIKOV, AN ; IBRAHIMI, OA ; ELISEENKOVA, AV ; YEH,

6 Literaturverzeichnis

- BK ; YAYON, A ; LINHARDT, RJ ; MOHAMMADI, M: Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization. In: *Mol Cell* 6 (2000), S. 743–750
- [226] SCHMIDT, EP ; LI, G ; LI, L ; FU, L ; YANG, Y ; OVERDIER, KH ; DOUGLAS, IS ; LINHARDT, RJ: The circulating glycosaminoglycan signature of respiratory failure in critically ill adults. In: *J Biol Chem* 289 (2014), S. 8194–8202
- [227] SCHMOECKEL, M ; BHATTI, FN ; ZAIDI, A ; COZZI, E ; WATERWORTH, PD ; TOLLAN, MJ ; PINO-CHAVEZ, G ; GODDARD, M ; WARNER, RG ; LANGFORD, GA ; DUNNING, JJ ; WALLWORK, J ; WHITE, DJ: Orthotopic heart transplantation in a transgenic pig-to-primate model. In: *Transplantation* 65 (1998), S. 1570–1577
- [228] SCHORR, CA ; ZANOTTI, S ; DELLINGER, RP: Severe sepsis and septic shock: Management and performance improvement. In: *Virulence* 5 (2014), S. 190–199
- [229] SECOMB, TW ; HSU, R ; PRIES, AR: Motion of red blood cells in a capillary with an endothelial surface layer: effect of flow velocity. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281 (2001), S. H629–36
- [230] SEGOVIA, J ; COSIO, MDG ; BARCELO, JM ; BUENO, MG ; PAVIA, PG ; BURGOS, R ; SERRANO-FIZ, S ; GARCIA-MONTERO, C ; CASTEDO, E ; UGARTE, J ; ALONSO-PULPON, L: RADIAL: a novel primary graft failure risk score in heart transplantation. In: *J Heart Lung Transplant* 30 (2011), S. 644–651
- [231] SELLKE, FW ; SHAFIQUE, T ; JOHNSON, RG ; DAI, HB ; BANITT, PF ; SCHOEN, FJ ; WEINTRAUB, RM: Blood and albumin cardioplegia preserve endothelium-dependent microvascular responses. In: *Ann Thorac Surg* 55 (1993), S. 977–985
- [232] SELLKE, FW ; SHAFIQUE, T ; SCHOEN, FJ ; WEINTRAUB, RM: Impaired endothelium-dependent coronary microvascular relaxation after cold potassium cardioplegia and reperfusion. In: *J Thorac Cardiovasc Surg* 105 (1993), S. 52–58
- [233] SHUMWAY, NE ; LOWER, RR ; STOFER, RC: Transplantation of the heart. In: *Adv Surg* 2 (1966), S. 265–284
- [234] SINIAWSKI, H ; DANDEL, M ; LEHMKUHL, HB ; HIEMANN, N ; KEMPER, D ; KNO-SALLA, C ; STEIN, J ; WENG, Y ; HETZER, R: Clinical, haemodynamic and echocardiographic features of early cardiac graft dysfunction. In: *Kardiol Pol* 70 (2012), S. 1010–1016
- [235] SKRZYPEC-SPRING, M ; GROTHUS, B ; SZELAG, A ; SCHULZ, R: Isolated heart perfusion according to Langendorff—still viable in the new millennium. In: *J Pharmacol Toxicol Methods* 55 (2007), S. 113–126
- [236] STARLING, EH: On the Absorption of Fluids from the Connective Tissue Spaces. In: *J Physiol* 19 (1896), S. 312–326
- [237] STEHLIK, J ; EDWARDS, LB ; KUCHERYAVAYA, Y ; BENDEN, C ; CHRISTIE, JD ; DIPCHAND, AI ; DOBBELS, F ; KIRK, R ; RAHMEL, AO ; HERTZ, MI: The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: 29th official adult

6 Literaturverzeichnis

- heart transplant report–2012. In: *J Heart Lung Transplant* 31 (2012), S. 1052–1064
- [238] STEPPAN, J ; HOFER, S ; FUNKE, B ; BRENNER, T ; HENRICH, M ; MARTIN, E ; WEITZ, J ; HOFMANN, U ; WEIGAND, MA: Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. In: *J Surg Res* 165 (2011), S. 136–141
- [239] STOBIEKSKA-DZIERZEK, B ; AWAD, H ; MICHLER, RE: The evolving management of acute right-sided heart failure in cardiac transplant recipients. In: *J Am Coll Cardiol* 38 (2001), S. 923–931
- [240] STOICA, SC ; SATCHITHANANDA, DK ; WHITE, PA ; SHARPLES, L ; PARAMESHWAR, J ; REDINGTON, AN ; LARGE, SR: Brain death leads to abnormal contractile properties of the human donor right ventricle. In: *J Thorac Cardiovasc Surg* 132 (2006), S. 116–123
- [241] SUBRAMANIAM, K: Early graft failure after heart transplantation: prevention and treatment. In: *Int Anesthesiol Clin* 50 (2012), S. 202–227
- [242] SUGAHARA, K ; KITAGAWA, H: Heparin and heparan sulfate biosynthesis. In: *IUBMB Life* 54 (2002), S. 163–175
- [243] SUTHERLAND, FJ ; HEARSE, DJ: The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. In: *Pharmacol Res* 41 (2000), S. 613–627
- [244] TAEGTMEYER, H ; HEMS, R ; KREBS, HA: Utilization of energy-providing substrates in the isolated working rat heart. In: *Biochem J* 186 (1980), S. 701–711
- [245] TAGHAVI, S ; ZUCKERMANN, A ; ANKERSMIT, J ; WIESELTHALER, G ; RAJEK, A ; LAUFER, G ; WOLNER, E ; GRIMM, M: Extracorporeal membrane oxygenation is superior to right ventricular assist device for acute right ventricular failure after heart transplantation. In: *Ann Thorac Surg* 78 (2004), S. 1644–1649
- [246] TANG-QUAN, KR ; BARTOS, J ; DEUSE, T ; CHURCHILL, E ; SCHAFER, H ; REICHENSPURNER, H ; MOCHLY-ROSEN, D ; ROBBINS, RC ; SCHREFFER, S: Non-volume-loaded heart provides a more relevant heterotopic transplantation model. In: *Transpl Immunol* 23 (2010), S. 65–70
- [247] TARABOLETTI, G ; D’ASCENZO, S ; BORSOTTI, P ; GIAVAZZI, R ; PAVAN, A ; DOLO, V: Shedding of the matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP as membrane vesicle-associated components by endothelial cells. In: *Am J Pathol* 160 (2002), S. 673–680
- [248] TARBELL, JM ; PAHAKIS, MY: Mechanotransduction and the glycocalyx. In: *J Intern Med* 259 (2006), S. 339–350
- [249] TAVERNA, M ; MARIE, A-L ; MIRA, J-P ; GUIDET, B: Specific antioxidant properties of human serum albumin. In: *Ann Intensive Care* 3 (2013), S. 4
- [250] THI, MM ; TARBELL, JM ; WEINBAUM, S ; SPRAY, DC: The role of the glycocalyx in reorganization of the actin cytoskeleton under fluid shear stress: a bumper-car model. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 101 (2004), S. 16483–16488

6 Literaturverzeichnis

- [251] TIMMERS, L ; PASTERKAMP, G ; HOOG, VC de ; ARSLAN, F ; APPELMAN, Y ; KLEIJN, DPV de: The innate immune response in reperfused myocardium. In: *Cardiovasc Res* 94 (2012), S. 276–283
- [252] UBERFUHR, P ; REICHART, B ; WELZ, A ; KREUZER, E ; KEMKES, BM ; KLINNER, W ; HAMMER, C ; ERTEL, W ; REICHENSPURNER, H ; GOKEL, M ; LAND, W ; FRANKE, N ; MATHES, P: Bericht über eine erfolgreiche orthotope Herztransplantation in Deutschland. In: *Klin Wochenschr* 60 (1982), S. 1435–1442
- [253] VALANTINE, HA: Cardiac allograft vasculopathy: central role of endothelial injury leading to transplant “atheroma”. In: *Transplantation* 76 (2003), S. 891–899
- [254] VINK, H ; CONSTANTINESCU, AA ; SPAAN, JA: Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer : implications for platelet-endothelial cell adhesion. In: *Circulation* 101 (2000), S. 1500–1502
- [255] VINK, H ; DULING, BR: Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. In: *Circ Res* 79 (1996), S. 581–589
- [256] VINK, H ; DULING, BR: Capillary endothelial surface layer selectively reduces plasma solute distribution volume. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278 (2000), S. H285–9
- [257] VOELKEL, NF ; QUAIFFE, RA ; LEINWAND, LA ; BARST, RJ ; MCGOON, MD ; MELDRUM, DR ; DUPUIS, J ; LONG, CS ; RUBIN, LJ ; SMART, FW ; SUZUKI, YJ ; GLADWIN, M ; DENHOLM, EM ; GAIL, DB: Right ventricular function and failure: report of a National Heart, Lung, and Blood Institute working group on cellular and molecular mechanisms of right heart failure. In: *Circulation* 114 (2006), S. 1883–1891
- [258] WAGNER, F: Monitoring and management of right ventricular function following cardiac transplantation. In: *Tx Med* 23 (2011), S. 169–176
- [259] WAGNER, FM: Donor heart preservation and perfusion. In: *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology* 15 (2011), S. 198–206
- [260] WAHLBERG, JA ; SOUTHARD, JH ; BELZER, FO: Development of a cold storage solution for pancreas preservation. In: *Cryobiology* 23 (1986), S. 477–482
- [261] WASSERFUHR, D ; CETIN, SM ; YANG, J ; FREITAG, P ; FREDE, S ; JAKOB, H ; MASSOUDY, P: Protection of the right ventricle from ischemia and reperfusion by preceding hypoxia. In: *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 378 (2008), S. 27–32
- [262] WEIGEL, PH ; HASCALL, VC ; TAMMI, M: Hyaluronan synthases. In: *J Biol Chem* 272 (1997), S. 13997–14000
- [263] WEINBAUM, S: 1997 Whitaker Distinguished Lecture: Models to solve mysteries in biomechanics at the cellular level; a new view of fiber matrix layers. In: *Ann Biomed Eng* 26 (1998), S. 627–643
- [264] WEINBAUM, S ; TARBELL, JM ; DAMIANO, ER: The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. In: *Annu Rev Biomed Eng* 9 (2007), S. 121–167

6 Literaturverzeichnis

- [265] WEINBAUM, S ; ZHANG, X ; HAN, Y ; VINK, H ; COWIN, SC: Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 (2003), S. 7988–7995
- [266] WEIS, F ; BEIRAS-FERNANDEZ, A ; KACZMAREK, I ; SODIAN, R ; KUR, F ; WEIS, M ; SCHMOECKEL, M ; REICHART, B: Levosimendan: a new therapeutic option in the treatment of primary graft dysfunction after heart transplantation. In: *J Heart Lung Transplant* 28 (2009), S. 501–504
- [267] WEN, P ; WANG, X ; WANG, J ; ZHANG, B ; QIU, G ; FAN, Y ; XU, Y ; TANG, H ; SUN, X ; PENG, Z: A simple technique for a new working heterotopic heart transplantation model in rats. In: *Transplant Proc* 45 (2013), S. 2522–2526
- [268] WERCHAN, PM ; McDONOUGH, KH: The right ventricular working heart preparation. In: *Proc Soc Exp Biol Med* 185 (1987), S. 339–346
- [269] WERCHAN, PM ; SUMMER, WR ; GERDES, AM ; McDONOUGH, KH: Right ventricular performance after monocrotaline-induced pulmonary hypertension. In: *Am J Physiol* 256 (1989), S. H1328–36
- [270] WIEDEMANN, D ; BOESCH, F ; SCHNEEBERGER, S ; KOCHER, A ; LAUFER, G ; SEMSROTH, S: Graft function after heterotopic rat heart transplant with an isolated reperfused working heart: a methodic consideration. In: *Exp Clin Transplant* 10 (2012), S. 154–157
- [271] WILSON, CH ; STANSBY, G ; HASWELL, M ; CUNNINGHAM, AC ; TALBOT, D: Evaluation of eight preservation solutions for endothelial in situ preservation. In: *Transplantation* 78 (2004), S. 1008–1013
- [272] WITTCHEN, ES: Endothelial signaling in paracellular and transcellular leukocyte transmigration. In: *Front Biosci (Landmark Ed)* 14 (2009), S. 2522–2545
- [273] YAMAGUCHI, S ; HARASAWA, H ; LI, KS ; ZHU, D ; SANTAMORE, WP: Comparative significance in systolic ventricular interaction. In: *Cardiovasc Res* 25 (1991), S. 774–783
- [274] YAO, Y ; RABODZEY, A ; DEWEY, CF J.: Glycocalyx modulates the motility and proliferative response of vascular endothelium to fluid shear stress. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293 (2007), S. H1023–30
- [275] YAYON, A ; KLAGSBRUN, M ; ESKO, JD ; LEDER, P ; ORNITZ, DM: Cell surface, heparin-like molecules are required for binding of basic fibroblast growth factor to its high affinity receptor. In: *Cell* 64 (1991), S. 841–848
- [276] YELLON, DM ; HAUSENLOY, DJ: Myocardial reperfusion injury. In: *N Engl J Med* 357 (2007), S. 1121–1135
- [277] YOKOYAMA, H ; OHMI, M ; MURATA, S ; NAKAME, T ; TABAYASHI, K ; MOHRI, H: Proposal of a working left heart model with a heterotopic transplantation technique in rats. In: *J Heart Lung Transplant* 14 (1995), S. 706–712
- [278] YOUNG, JB ; HAUPTMAN, PJ ; NAFTEL, DC ; EWALD, G ; AARONSON, K ; DEC, GW ; TAYLOR, DO ; HIGGINS, R ; PLATT, L ; KIRKLIN, J: Determinants of early

6 Literaturverzeichnis

- graft failure following cardiac transplantation, a 10-year, multi-institutional, multivariable analysis. In: *J Heart Lung Transplant* 20 (2001), S. 212
- [279] YTREHUS, K: The ischemic heart-experimental models. In: *Pharmacol Res* 42 (2000), S. 193–203
- [280] ZIMMER, RJ ; LEE, MS: Transplant coronary artery disease. In: *JACC Cardiovasc Interv* 3 (2010), S. 367–377
- [281] ZUURBIER, CJ ; DEMIRCI, C ; KOEMAN, A ; VINK, H ; INCE, C: Short-term hyperglycemia increases endothelial glycocalyx permeability and acutely decreases lineal density of capillaries with flowing red blood cells. In: *J Appl Physiol* (1985) 99 (2005), S. 1471–1476

7 Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. Bernhard F. Becker für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und für die umsichtige fachliche Unterstützung während der Vorbereitung und Durchführung der Versuche sowie bei der Fertigstellung dieser Arbeit bedanken.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. Matthias Jacob für die optimale Betreuung und die intensive Einarbeitung.

Daneben gilt mein Dank auch den weiteren Mitgliedern der Arbeitsgruppe, Herrn PD Dr. med. Daniel Chappell und Herrn Dr. med. Jörn Oliver Paul für ihre Unterstützung während der Durchführung der Versuche.

Mein Dank gilt besonders Frau Dora Kiesel für die Durchführung der Metabolitmessungen, vor allem aber dafür, dass sie immer ein offenes Ohr und eine Lösung für alle auftretenden Probleme hatte.

Bei den Mitarbeiterinnen im Forschungslabor Großhadern der Klinik für Anaesthesiologie, Klinikum der Universität München möchte ich mich für die Bestimmung der Glykokalyxbestandteile bedanken.

Frau Viola Leppke danke ich für die Hilfe bei der Erstellung der Abbildungen.

Bei meinen Eltern und meiner großen Schwester Hannah möchte ich mich für ihre ausdauernde Unterstützung bedanken.

Außerdem gilt mein Dank Jana und Peter für ihre Unterstützung.