

Untersuchung von thorakalen Ergüssen nach
präklinischer orthotoper kardialer Xenotransplantation

Von Julia Katharina Radan

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Untersuchung von thorakalen Ergüssen nach
präklinischer orthotoper kardialer Xenotransplantation

von Julia Katharina Radan
aus Bad Aibling

München 2024

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Univ.-Prof. Dr. Eckhard Wolf

Angefertigt an der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik des Klinikums der
Universität München in Großhadern

Mentor: PD Dr. Matthias Längin

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Eckhard Wolf

Korreferent: Prof. Dr. Gerhard Wess

Tag der Promotion: 6. Juli 2024

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	2
1.	Der Mangel an Spenderorganen	2
1.1.	Zahlen und Fakten	2
1.2.	Alternativen zur allogenen Herztransplantation	4
2.	Geschichte der Xenotransplantation	6
2.1.	Definition der Xenotransplantation	6
2.2.	Frühe Xenotransplantationsversuche	6
2.3.	Geschichte der kardialen Xenotransplantation	7
3.	Fortschritte und Barrieren im Bereich der Xenotransplantation	10
3.1.	Immunologische Barrieren in der Xenotransplantation	10
3.1.1.	Transplantatabstoßung	10
3.1.1.1.	Hyperakute Abstoßung	10
3.1.1.2.	Akute humorale Abstoßung	10
3.1.1.3.	Akute zelluläre Abstoßung	11
3.1.1.4.	Chronische Xenograft-Abstoßung	11
3.1.2.	Gerinnungsstörungen und Inflammation	12
3.2.	Das Schwein als Organspender	13
3.3.	Transgene Schweine	15
3.3.1.	Xenozoonosen	16
4.	Ergüsse nach orthotoper Herztransplantation	19
4.1.	Pleuraergüsse	19
4.2.	Perikardergüsse	20
5.	Anatomie und Physiologie von Pleura und Perikard	21
5.1.	Anatomischer Aufbau der Pleura	21
5.2.	Physiologische Bildung und Zusammensetzung von Pleuraflüssigkeit	22
5.3.	Anatomischer Aufbau des Perikards	25
5.4.	Physiologische Bildung und Zusammensetzung von Perikardflüssigkeit	25
6.	Pathogenese, Ätiologie und Symptome von Pleura- und Perikardergüssen	27
6.1.	Pleuraergüsse	27
6.2.	Perikardergüsse	28

7.	Arten von Pleuraergüssen	30
7.1.1.	Transsudat und Exsudat	30
7.1.2.	Chylothorax	31
7.1.3.	Hämatothorax	31
7.1.4.	Pyothorax	31
8.	Diagnostik von Pleuraergüssen	33
8.1.	Makroskopische Beurteilung	33
8.2.	Die Light Kriterien in der Humanmedizin	33
8.3.	Weitere biochemische Tests	35
9.	Diagnostik von Perikardergüssen	36
10.	Spezifische laborchemische Parameter	37
10.1.	Messung von „N-terminal pro B-Type natriuretic peptide“	37
10.2.	Messung von Interleukin-6	38
10.3.	Messung von Troponin T high-sensitiv	38
11.	Therapiemöglichkeiten	40
11.1.	Pleuraergüsse	40
11.2.	Perikardergüsse	41
12.	Sonographie	42
12.1.	Physikalische und technische Grundlagen der Sonographie	42
12.2.	Pleura und Lunge in der Sonographie	45
12.3.	Der Pleuraerguss in der Sonographie	45
13.	Sonographische Quantifizierung von Pleuraergüssen	47
13.1.	Formeln zu Quantifizierung von Pleuraergüssen in der Humanmedizin ..	48
13.2.	Quantifizierung von Pleuraergüssen in der Veterinärmedizin	50
III.	ZIELSETZUNG	51
IV.	MATERIAL UND METHODEN	52
1.	Die orthotope Herztransplantation	52
1.1.	Explantation des Spenderherzens	52
1.2.	Implantation des Spenderherzens	53
1.3.	Postoperative Überwachung und Versorgung	54
1.4.	Versuchsende	54
2.	Immunsuppression und supportive Behandlung	55

3.	Spender- und Empfängertiere.....	56
4.	Postoperative transthorakale Sonographie.....	59
4.1.	Durchführung der postoperativen transthorakalen Sonographie.....	59
4.1.1.	Durchführung der Thorakozentese.....	59
4.1.2.	Dokumentation der Pleuraergüsse.....	60
4.2.	Sonographische Quantifizierung der Pleuraergüsse.....	61
5.	Unterscheidung zwischen Transsudat und Exsudat	63
5.1.	Chylothorax als Sonderform eines Exsudates	63
6.	Untersuchung weiterer Parameter im Erguss	64
7.	Statistische Auswertung.....	65
V.	ERGEBNISSE	66
1.	Volumenberechnung von Pleuraergüssen.....	66
1.1.	Zusammenhang zwischen Körperoberfläche (KOF) und Gewicht und den Ergusseinzelvolumina (EEV)	66
1.2.	Zusammenhang zwischen den Ergusseinzelvolumina (EEV) und den sonographischen Messungen.....	66
1.3.	Erstellung einer Formel zur Abschätzung der Ergusseinzelvolumina (EEV) mittels Sonographie	67
2.	Qualitative Untersuchung der Pleuraergüsse.....	68
2.1.	Einteilung der Pleuraergüsse	68
2.1.1.	Laktatdehydrogenase (LDH) und Protein in Serum und Pleuraerguss	68
2.1.2.	Die verkürzten Light Kriterien	71
2.1.3.	Die Einteilung in Transsudat und Exsudat	75
2.1.4.	Sonderfall Chylothorax	76
3.	Weitere relevante biochemische Parameter im Erguss	77
3.1.	NT-proBNP	77
3.2.	Troponin T	79
3.3.	Interleukin-6	81
4.	Sonderfall isolierte Pleura- und Perikardergüsse	83
5.	Entwicklung und Verlauf von Pleuraergüssen nach Xenotransplantation	86
5.1.	Überblick	86
5.2.	Einflussfaktoren auf die Ergussvolumina	89

VI.	DISKUSSION	91
1.	Quantitative Analyse von Pleuraergüssen	91
1.1.	Methodendiskussion	91
1.1.1.	Einfluss von Gewicht und Körperoberfläche auf die Ergussvolumina	91
1.1.2.	Auswahl der Messmethode	92
1.2.	Einschränkungen bei der sonographischen Untersuchung	93
1.3.	Stichprobenumfang	94
1.4.	Volumenberechnung von Pleuraergüssen	95
2.	Qualitative Analyse von Pleuraergüssen	97
2.1.	Einteilung der Pleuraergüsse anhand der verkürzten Light Kriterien	97
2.2.	Die Einteilung der Pleuraergüsse in Transsudat und Exsudat	98
3.	Mögliche Ursachen der Pleuraergüsse	100
3.1.	Einfluss der Operation auf die Bildung von Pleuraergüssen	100
3.1.1.	Häufigkeit, Zeitpunkt und Art von Pleuraergüssen nach Herztransplantationen	100
3.1.2.	Das Postperikardiotomie-Syndrom (PPS)	101
3.1.3.	Postoperatives Management	102
3.2.	Kardiale Ursachen	103
3.2.1.	Kardiale Hypertrophie	103
3.2.2.	Herzinsuffizienz und der kardiale Marker NT-proBNP	104
3.3.	Venöse Thrombosen und Chylothorax	105
3.4.	Infektion und Inflammation und die Rolle von IL-6	106
3.4.1.	Systemic inflammation of xenograft recipients (SIXR)	108
3.4.2.	Porzines Cytomegalievirus (PCMV)	108
3.4.3.	Wahl der Kostimulationsblockade und Graftabstoßung	109
4.	Beweise für das Vorliegen von Perikardergüssen	112
4.1.	Untersuchung der Laktatdehydrogenase (LDH)	112
4.2.	Untersuchung des „N-terminal pro B-Type natriuretic peptide“ (NT-proBNP)	113
4.3.	Untersuchung von Troponin T high-sensitiv	114
5.	Schlussfolgerung und Ausblick	116
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	118
VIII.	SUMMARY	120

IX.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	122
X.	TABELLENVERZEICHNIS	124
XI.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	126
XII.	LITERATURVERZEICHNIS	127
XIII.	PUBLIKATIONEN IM RAHMEN DER LABORTÄTIGKEIT.....	143
XIV.	ANHANG	145
1.	Ergänzung Material und Methoden	145
1.1.	Liste der verwendeten Medikamente	145
1.2.	Liste der verwendeten Verbrauchsmaterialien und sonstige Materialien	146
2.	Ergänzung Ergebnisse	148
2.1.	Umfassende Ergebnisse der Ergussdiagnostik zur Einteilung der Pleurapunkte in Transsudat und Exsudat	148
2.2.	Körperoberfläche.....	152
XV.	DANKSAGUNG	153

I. EINLEITUNG

Es herrscht ein massiver Mangel an humanen Spenderorganen im Vergleich zu der großen Anzahl an Patienten, die auf ein Organ warten. 2022 standen 507 Personen auf der Warteliste für eine Herztransplantation, 358 Herzen konnten transplantiert werden. Für einen Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz stellt die Transplantation eines Herzens oft die einzige Überlebenschance dar. Herzunterstützungssysteme können die Wartezeit auf ein Organ überbrücken, bringen aber massive Einbußen in der Lebensqualität mit sich.

Die erste xenogene Transplantation eines Schweineherzens in den Menschen wurde in Amerika im Januar 2022 durchgeführt. Dadurch rückten die Möglichkeiten der Xenotransplantation in den Fokus der Öffentlichkeit. Der Bereich der Xenotransplantation beschäftigt sich mit der Transplantation von tierischen Organen und Geweben in den Menschen. Dabei hat sich das Schwein als ein geeigneter Organspender herausgestellt. Die kardiale Xenotransplantation befindet sich in Deutschland schon in der präklinischen Phase. Durch verschiedene genetische Modifikationen der Spendertiere und ein geeignetes immunsuppressives Medikamentenregime konnten Paviane mit transplantierten Schweineherzen bereits sechs Monate überleben. Auch in Deutschland scheint ein Einsatz beim Menschen in absehbarer Zeit wahrscheinlich.

Eine häufige Komplikation nach einer allogenen Herztransplantation ist die Entstehung von Pleura- und Perikardergüssen. Auch bei der orthotopen kardialen Xenotransplantation vom Schwein auf den Pavian treten Ergüsse in der postoperativen Phase auf. In der vorliegenden Arbeit soll das Volumen dieser Ergüsse mit Hilfe einer durch sonographische Messungen aufgestellten Formel quantifiziert werden. Des Weiteren sollen die Ergüsse nach biochemischen Kriterien in Transsudate und Exsudate eingeteilt werden. Zudem soll nach möglichen Ursachen für die Entstehung von Ergüssen im präklinischen, kardialen Xenotransplantationsmodell Schwein auf Pavian geforscht werden.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Der Mangel an Spenderorganen

1.1. Zahlen und Fakten

Laut der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) wurden im Jahr 2022 postmortal 2.662 Organe entnommen und transplantiert [1]. Im Vergleich zum Vorjahr ist das ein Rückgang von 8,4% an gespendeten Organen. Auf der Warteliste standen im Dezember 2022 jedoch 8.826 Patienten, davon waren 8.496 Patienten als transplantabel gemeldet [1]. Abbildung 1 zeigt die Entwicklung der Anzahl an postmortalen Organspendern zwischen den Jahren 2013 und 2022.

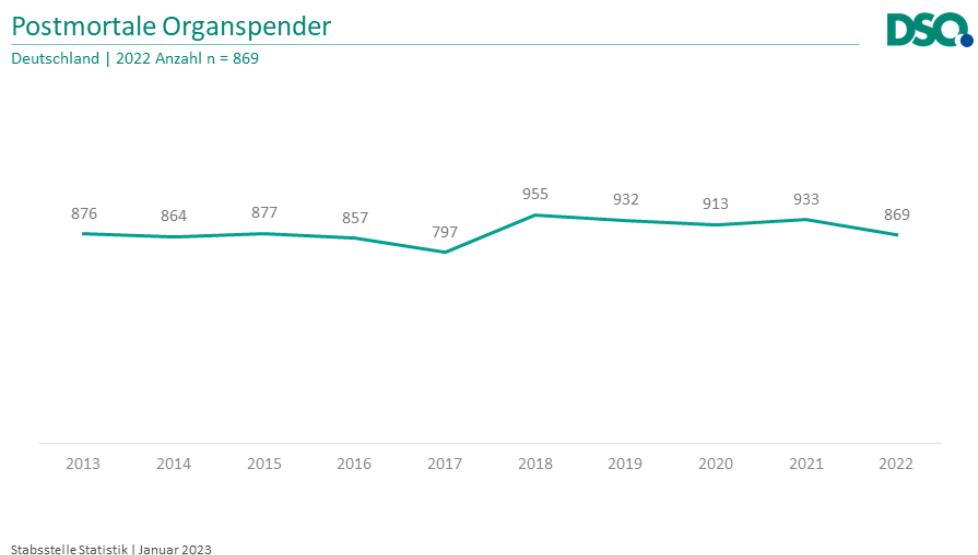


Abbildung 1: Postmortale Organspender in den Jahren 2013-2022 in Deutschland. Entnommen aus den Statistiken der DSO [2]

Die Bereitschaft zur Organspende ist im Vergleich zum Vorjahr um 6,9% gesunken. Im Jahr 2022 wurden 869 Personen als postmortale Organspender gezählt, wobei pro Spender im Durchschnitt 3,1 Organe gespendet wurden [1]. Diese Zahlen belegen, wie gravierend der Mangel an Spenderorganen in Deutschland ist. Es gibt insgesamt immer noch viel zu wenig gespendete Organe im Verhältnis zu dem hohen Bedarf.

Ein Grund hierfür ist, dass zu wenige Menschen in Deutschland ihre Entscheidung für eine postmortale Organspende in einem Organspendeausweis oder einer Patientenverfügung festhalten [3]. Laut einer Repräsentativbefragung im Jahr 2022

zum Thema Organspende der Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung (BZgA) stehen 84% der Befragten einer Organ- und Gewebespende positiv gegenüber [3]. Davon haben allerdings nur 61% eine Entscheidung zu diesem Thema getroffen und nur 44% haben diese Entscheidung schriftlich, im Organspendeausweis oder einer Patientenverfügung festgehalten [3]. Deswegen fiel die Entscheidung in den letzten Jahren oft auf Basis des vermuteten Willens des Verstorbenen [1]. Hauptgrund für nicht realisierbare Organspenden ist laut DSO seit einigen Jahren die fehlende Zustimmung durch Angehörige [1]. Die Angst vor Missbrauch und mangelndes Vertrauen in das Organspendesystem sowie der Glaube, nicht als Spender geeignet zu sein sind die meistgenannten Gründe für eine Ablehnung [3].

Eine Organtransplantation ist für viele schwerkranke Menschen jedoch die einzige Hoffnung auf Überleben oder eine bessere Lebensqualität. Mehr als 1.000 Patienten jährlich können wegen Verschlechterung des Gesundheitszustandes oder eines frühzeitigen Todes nicht mehr transplantiert werden [1].

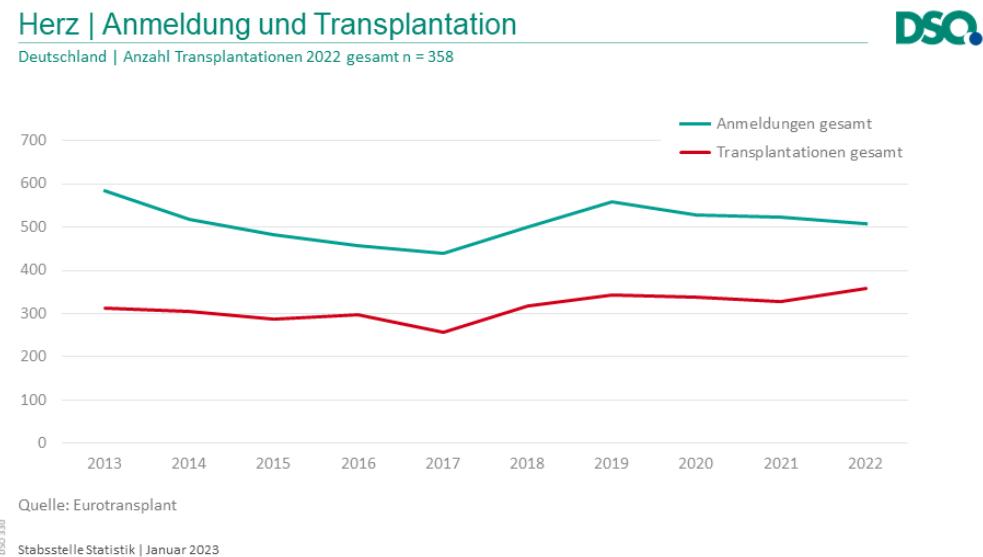


Abbildung 2: Herztransplantationen und Neuanmeldungen auf die Warteliste. Die Grafik wurde entnommen aus den Statistiken der DSO [4]

Abbildung 2 stellt die durchgeführten Herztransplantationen ins Verhältnis zu Neuanmeldungen auf der Warteliste für eine Herztransplantation. Im Dezember 2022 gab es insgesamt 507 Anmeldungen auf der Warteliste und 358 Abgänge, 358 Herzen wurden in diesem Jahr transplantiert [1]. Es sind in den letzten Jahren zwar die durchgeführten Herztransplantationen gestiegen, jedoch auch die Anmeldungen für das Spenderorgan Herz. Kardiomyopathien sowie chronisch ischämische

Herzkrankheiten sind die Hauptgründe für eine Herztransplantation [1].

1.2. Alternativen zur allogenen Herztransplantation

Die vorliegenden Zahlen legen nahe, dass die Diskrepanz zwischen verfügbaren und benötigten Spenderorganen durch Allotransplantation allein nicht ausgeglichen werden kann. Es muss nach alternativen und längerfristigen Lösungen gesucht werden. Dabei bieten sich bereits etablierte mechanische Herz-Unterstützungssysteme („assist devices“) an. „Assist Devices“ waren initial hauptsächlich als Überbrückung der Wartezeit auf ein Spenderherz („bridge to transplantation“) gedacht [5]. Inzwischen werden sie aufgrund der herrschenden Organknappheit vermehrt auch als dauerhafte Lösung eingesetzt v.a. bei Patienten, die nicht auf die Warteliste für eine Herztransplantation aufgenommen werden können [5-7]. Fortschritte wurden dabei vorrangig im Bereich der Magnetfeld-gelagerten Zentrifugalpumpen gemacht. Das Risiko sowohl von Pumpfehlfunktionen als auch von Thrombosen ist bei dieser Art von Pumpsystemen geringer [7]. „Assist Devices“ können als univentrikuläres System die Funktion eines (üblicherweise des linken) Ventrikels (LVAD: „left ventricular assist device“) oder als biventrikuläres System (BiVAD: „biventricular assist device“) die Funktion beider Ventrikel übernehmen.

Das 1-Jahresüberleben nach allogener Herztransplantation liegt bei 91%, das 5-Jahresüberleben noch bei 78,3% [8]. Die mediane Überlebensrate liegt zwischen 12 und 13 Jahren [9]. Dagegen liegt das 1-Jahresüberleben nach LVAD-Implantation aktuell bei 83%, die 5-Jahres Überlebensrate nur bei 46% [10]. Die Ergebnisse nach BiVAD-Implantation sind noch schlechter: Hier liegt die Überlebensrate nach nur sechs Monaten bei 56% [11]. Komplikationen wie Schlaganfälle, Infektionen, Multiorganversagen und neurologische Störungen sind häufig [10]. Deshalb gilt die allogene Transplantation von Herzen aufgrund von geringeren Komplikationen und höherer Lebensqualität immer noch als therapeutischer Goldstandard für Patienten mit terminalem Herzversagen.

Im Bereich der Stammzellforschung gelang es Forschern mittels 3D-Drucker ein anatomisch korrektes Miniatur-Herz aus pluripotenten Stammzellen zu drucken [12]. Die Stammzellen differenzierten sich zu Myozyten und Endothelzellen, als Stützgewebe fungierte ein Hydrogel aus Kollagen und Glykoproteinen. Die Herzmuskelzellen konnten sich zwar kontrahieren, aber nicht gegen einen Widerstand auswerfen [12]. Damit scheint eine klinische Anwendung in naher

Zukunft nicht wahrscheinlich.

Eine weitere Möglichkeit wäre die Xenotransplantation, die Transplantation von Organen einer anderen Spezies in den Menschen. In Amerika wurde bereits zwei Patienten ein genetisch modifiziertes Schweinherz transplantiert, allerdings verstarben die Patienten nach kurzer Zeit [13-15].

2. Geschichte der Xenotransplantation

2.1. Definition der Xenotransplantation

Die Xenotransplantation umfasst jede Prozedur, welche die Transplantation, Implantation oder Infusion von lebenden Zellen, Geweben und Organen zwischen zwei verschiedenen Spezies beschreibt, im Besonderen die Übertragung vom Tier auf den Menschen [16]. Auch nicht lebensfähige oder azelluläre Biomaterialien wie beispielsweise Herzklappen, Blutgefäße und Sehnen fallen unter diese Definition [16]. Im Gegensatz dazu beschreibt die Allotransplantation eine Transplantation von Organen oder Geweben zwischen zwei Individuen der gleichen Spezies, z.B. von einem Menschen auf den anderen.

2.2. Frühe Xenotransplantationsversuche

Die ersten Experimente zur Xenotransplantation wurden mit Zellen und Geweben unternommen. Die Xenotransplantation von Organen folgte später, da man keine Möglichkeit hatte, Blutungen unter Kontrolle zu bringen und die Blutzirkulation im Transplantat wieder herzustellen [17].

Im 17. Jahrhundert versuchte der Franzose Jean-Baptiste Denis Blut von Tieren in den Menschen zu transfundieren [17, 18]. Im 19. Jahrhundert experimentierte man mit der Transplantation von tierischer Haut auf den Menschen [17, 18]. Die erste Kornea-Transplantation vom Schwein auf einen Menschen fand im selben Jahrhundert statt, die erste Allotransplantation einer Kornea erst 65 Jahre später. Meistens wurde die xenogene Kornea allerdings schon innerhalb eines Monats abgestoßen [18, 19].

Durch die Entwicklung von chirurgischen Techniken zur Gefäßanastomose durch den französischen Chirurgen Alexis Carrel wurde die Transplantation von ganzen Organen ermöglicht [17, 18]. Carrel experimentierte mit der Transplantation von Hundeherzen und -nieren. Er transplantierte die Organe dabei nicht nur an den ursprünglichen Bestimmungsort, in orthotoper Position, sondern auch in heterotoper Position, zum Beispiel an den Hals der Tiere, also an eine Position, die nicht mit der normalen anatomischen Lage übereinstimmt [18, 20].

Die erste Organtransplantation von einem Tier in einen Menschen wurde durch Princeteau im Jahre 1905 durchgeführt [17]. Er transplantierte Teile einer Hasenniere in ein Kind mit akutem Nierenversagen; das Kind starb allerdings nach

16 Tagen an einer Lungenstauung. Keith Reemtsma transplantierte in den 1960er Jahren mehrere Nieren von Schimpansen, weil er sich durch die nahe evolutionäre Verwandtschaft zum Menschen bessere Ergebnisse erhoffte [17, 18]. Auch diese Patienten starben nach mehreren Wochen. Die meisten der frühen Experimente scheiterten aufgrund der fehlenden Immunsuppression [18].

2.3. Geschichte der kardialen Xenotransplantation

Die erste kardiale Xenotransplantation wurde von dem Amerikaner James Hardy durchgeführt [18, 21]. Hardys Patient Boyd Rush befand sich nach einer Beinamputation im kardiogenen Schock. Zur Rettung des Patienten wurde ihm das Herz eines Schimpansen transplantiert, allerdings verstarb er kurz darauf aufgrund einer hyperakuten Abstoßungsreaktion [18, 21]. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die ersten xenogenen Herztransplantationen:

Jahr	Autor	Spendertier	Überlebenszeit
1964	James Hardy [21]	Schimpanse	90 Stunden
1968	Ross [17]	Schwein	4 Minuten
1968	Cooley [22]	Schaf	10 Minuten
1969	Marion [17]	Schimpanse	„sehr kurz“
1977	Barnard [23]	Pavian	5 Stunden, 30 Minuten
		Schimpanse	4 Tage
1984	Bailey [24]	Pavian	20 Tage
1992	Religa und Czaplicki [25]	Schwein	23 Stunden
1996	Baruah [26]	Schwein	7 Tage

Tabelle 1: Überblick der Xenotransplantationen am Organ Herz von 1964-1996. Entnommen und ins Deutsche übersetzt aus Deschamps et al. [17]

Christiaan Barnard führte drei Jahre nach James Hardy im Groote Schuur Hospital in Südafrika die erste allogene Herztransplantation (von Mensch zu Mensch) durch [18]. Dadurch konzentrierte sich das Bemühen zunächst auf die Allotransplantation. Im Jahre 1977 führte Barnard zwei xenogene heterotope thorakale Herztransplantationen durch. Die Herzen (Grafts) wurden dabei mit dem Eigenherz des Empfängers verbunden. Beide Patienten verstarben nach kurzer Zeit [23].

Die Xenotransplantation eines Pavianherzens im Jahre 1984 durch den amerikanischen Chirurgen Leonard Bailey erregte großes öffentliches Interesse [24]. Die Empfängerin, das 12 Tage alte Baby „Fae“, litt am hypoplastischen Linksherzsyndrom, einem schweren angeborenen Herzfehler, der bei Neugeborenen damals nicht immer operativ zu korrigieren war und regelhaft zum Tode führte. Technisch war die Operation ein Erfolg, allerdings verstarb Fae 20 Tage nach der Transplantation wegen einer akuten Abstoßungsreaktion des Transplantats [24]. Einige Kollegen warfen Bailey vor, das Baby für seine Forschungen missbraucht und ohne wirkliche Hoffnung auf ein Gelingen operiert zu haben. Es wurden keine Bemühungen unternommen, nach einem menschlichen Spenderherz zu suchen oder den Defekt mit einer Operation auszugleichen [27]. Dies brachte die Bemühungen im Bereich der konkordanten Xenotransplantation zunächst zum Erliegen [17].

Nach der ersten erfolgreichen Herz-Allotransplantation im Jahr 1967 wurden für weitere Transplantationen menschliche Organe bevorzugt [17]. Nachdem der Organbedarf durch menschliche Organspender nicht mehr ausgeglichen werden konnte, rückte jedoch die xenogene Transplantation von Organen wieder in den Vordergrund [17].

In einer Studie von Reichart et. al. im Jahre 1989 wurden bereits verschiedene immunsuppressive Regime zur Behandlung nach zervikaler heterotoper Herztransplantation von grünen Meerkatzen auf Bärenpaviane getestet. Die besten Ergebnisse mit den längsten Graft-Überlebenszeiten zeigte die Gruppe mit einer Immunsuppression durch Cyclosporin, Azathioprin und Methylprednisolon in Kombination mit Antithymozytenglobulin [28]. Durch weitere Fortschritte im Bereich der Immunsuppression (z.B. Einführung von Tacrolimus) und der genetischen Modifikation von Schweinen konnten xenogene Abstoßungsreaktionen immer besser kontrolliert werden und eine Durchführung von klinischen Studien wurde wahrscheinlicher [29]. Deshalb hat ein Expertengremium im Jahre 2000 folgende Vorgaben zur Durchführung von klinischen Studien festgelegt: Im lebenserhaltenden orthotopen Herztransplantationsmodell (Schwein auf Pavian) sollten mindestens 60% der Empfängertiere aus einer Serie von konsekutiven Experimenten drei Monate mit dem transplantierten Schweineherz überleben. Zudem sollten Beweise für ein längeres Überleben von über sechs Monaten erbracht werden [30].

Diese Voraussetzungen wurden im Jahr 2018 erstmals durch die Münchner

Arbeitsgruppe um Professor Reichart erfüllt: In einer Serie von acht konsekutiven Experimenten überlebten sechs Tiere mindestens 90 Tage, zwei Tiere sogar 182 und 192 Tage [31]. Mohiuddin et. al publizierten im Jahre 2022 die erfolgreiche Transplantation von sechsfach-genetisch modifizierten Schweineherzen in orthotoper Position in Paviane. Die Empfängertiere überlebten sechs Monate [32]. Im selben Jahr fand die erste Transplantation eines Schweineherzens in einen Menschen statt [14]. Das Herz stammte von einem Schwein mit 10-fach genetischen Modifikationen. Der Patient konnte damit 60 Tage überleben. Im Herbst 2023 transplantierte dieselbe Gruppe um Mohiuddin et al. ein weiteres Schweineherz in einen Menschen. Dieser Patient verstarb nach 6 Wochen [13, 15].

3. Fortschritte und Barrieren im Bereich der Xenotransplantation

3.1. Immunologische Barrieren in der Xenotransplantation

3.1.1. Transplantatabstoßung

Bei allogenen Transplantationen muss hauptsächlich die erworbene Immunantwort überwunden werden, wohingegen bei der Xenotransplantation sowohl erworbene als auch angeborene Immunmechanismen eine Rolle spielen [33].

Man unterscheidet vier Arten von Organabstoßung in der Xenotransplantation. Die hyperakute Abstoßung, die akute humorale Abstoßung, die akute zelluläre Abstoßung und die chronische Transplantatabstoßung [33, 34].

3.1.1.1. Hyperakute Abstoßung

Die hyperakute Abstoßung (hyperacute rejection = HAR) entwickelt sich rasch innerhalb der ersten 24 Stunden nach einer Transplantation [35, 36]. Durch den Kontakt mit verschiedenen Bakterien, Viren und Parasiten entwickeln Menschen und auch Altweltaffen, wie beispielsweise Paviane, schon in den ersten Lebenswochen natürliche Antikörper gegen Galactose- α 1,3-galactose (α Gal) Epitope [35, 37]. Diese α Gal Epitope bestehen aus Oligosaccharidstrukturen die auf den Endothelzellen von Schweinen vorkommen [38]. Sowohl der Mensch als auch der Primat besitzen diese nicht. Bei einer Transplantation von Schweineorganen binden die präformierten natürlichen Antikörper im Empfänger (z.B. Pavian oder Mensch) an α Gal Epitope im Transplantat, was zur Komplementaktivierung führt [33, 35, 36].

Die Folge ist eine schnelle Zerstörung des Grafts. Es kommt zur Bildung von vaskulären Thromben, interstitiellen Blutungen und Ödemen, was zum Untergang von Endothelzellen und letztlich zur Abstoßung des Transplantats führt [33, 35, 39].

3.1.1.2. Akute humorale Abstoßung

Bei der akuten humoralen Abstoßung (acute humoral xenograft rejection = AHXR), auch akut vaskuläre Abstoßung oder verzögerte xenogene Transplantatabstoßung genannt, handelt es sich um eine Antikörper-mediierte Abstoßung, die innerhalb von Tagen und Wochen auftreten kann. Ausgelöst wird sie durch eine Kombination humoraler und zellulärer Immunantworten, Endothelzellaktivierung und

Entzündungsreaktionen [35, 40, 41].

Dabei spielen sowohl präformierte sowie induzierte xenoreaktive Antikörper eine Rolle [42]. Eine Bindung von xenoreaktiven Antikörpern an Endothelzellen verursacht Komplementaktivierung, Endothelzellaktivierung und Zellschädigung durch antikörperabhängige zellvermittelte Toxizität (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity = ADCC). Dadurch werden weitere Zellen des Immunsystems rekrutiert und die Bildung von Antikörpern durch natürliche Killerzellen (NK) und Makrophagen angeregt [40, 42, 43].

Gal-spezifische Antikörper können für eine HAR und eine AHXR verantwortlich sein. Es hat sich jedoch gezeigt, dass auch non-Gal Antikörper eine AHXR auslösen können [34, 35].

3.1.1.3. Akute zelluläre Abstoßung

Eine akute zelluläre Abstoßung (acute cellular rejection = ACR) kann Tage bis Wochen nach der Transplantation auftreten [41]. Sie wird durch das angeborene und erworbene Immunsystem vermittelt. Daran beteiligt sind NK-Zellen, T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, Neutrophile und dendritische Zellen [34].

Am wichtigsten ist dabei vermutlich die T-Zell-vermittelte Abstoßung. Die T-Zellen werden sowohl direkt als auch indirekt aktiviert [44]. Antigenpräsentierende Zellen vom Spender (Schwein) aktivieren direkt T-Zellen des Empfängers (Primat): Es kommt zu zytotoxischen Reaktionen gegen das Graft-Endothel [44, 45]. Bei der indirekten Aktivierung werden Donorpeptide über MHC II-Moleküle auf antigenpräsentierenden Zellen des Empfängers präsentiert. Diese werden von Empfänger-MHC II erkannt und präsentiert. Es kommt zu CD4+ T-Zell Stimulation, B-Zell Aktivierung, Antikörperproduktion und humoraler Xenograft Abstoßung [34, 44].

Die ACR ähnelt der zellulären Abstoßung bei Allotransplantationen. Dies wurde bei Organtransplantationen vom Schwein auf den nichtmenschlichen Primat (non-human primate: NHP) allerdings selten beobachtet [35, 46]. Es kann daran liegen, dass die AHXR stärker ist und somit die ACR überlagert, oder dass die derzeitige immunsuppressive Therapie ausreicht, um die akute zelluläre Abstoßungsreaktion zu kontrollieren [35, 46].

3.1.1.4. Chronische Xenograft-Abstoßung

Die chronische Abstoßungsreaktion, wie z.B. die Graft-Atherosklerose ist im

Bereich der Xenotransplantation noch nicht ausreichend erforscht, da noch keine fundierten Erfahrungen mit Langzeitversuchen vorliegen. Vaskulopathien wurden bei Schweineherzen dokumentiert, die länger als 3 Monate im Pavian implantiert waren [39].

3.1.2. Gerinnungsstörungen und Inflammation

Gerinnungsstörungen zählen zu den größten Barrieren in der Xenotransplantation. Bei einer Verletzung von Endothelzellen kommt es im Normalfall zur Freisetzung von tissue factor (Gewebefaktor) und damit zur Auslösung der extrinsischen Gerinnungskaskade mit der Bildung von Thrombin und letztlich Fibrin [47]. Das Gleichgewicht zwischen Gerinnung und Gerinnungshemmung wird durch den Tissue factor pathway inhibitor, Thrombomodulin (TM) und Protein C reguliert. TM wirkt dabei als Kofaktor bei der Aktivierung des gerinnungshemmenden Protein C [48]. Aufgrund molekularer Inkompatibilitäten der Gerinnungssysteme zwischen Schwein und Pavian kann es zu einer erhöhten intravaskulären Gerinnungsneigung kommen [49]. Das porzine TM kann mit dem Thrombin von Primaten keinen Komplex bilden und somit Protein C nicht aktivieren, weshalb eine Gerinnungsaktivierung im Graft nicht erfolgreich gestoppt werden kann [34, 50]. Durch Fibrinbildung und Thrombozytenaggregation kann es zu Thrombosen in den Graft-Gefäßen und dadurch zu Ischämien kommen, thrombotische Mikroangiopathien im Graft sind die Folge [51, 52].

Die Rolle des Inflammationsgeschehens in der Xenotransplantation ist noch nicht vollständig geklärt. Es gibt jedoch Hinweise auf eine systemische inflammatorische Antwort des Empfängers auf das Schweine-Xenograft (systemic inflammation in xenograft recipients = SIXR) [53]. Tissue factor löst nicht nur die Bildung von Thrombin aus, sondern ist auch ein Marker für Inflammation. Die pro-inflammatorischen Zytokine Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) und C-reaktives Protein (CRP) führen zu einer erhöhten Bildung von tissue factor auf den Zellen des angeborenen Immunsystems und somit zur Gerinnungsaktivierung [54]. Die Inflammation und die Aktivierung des angeborenen Immunsystems verstärken die Aktivierung der adaptiven Immunantwort [54].

3.2. Das Schwein als Organspender

Aus immunologischer Sicht wäre eigentlich der Menschenaffe als Organspendekandidat für den Menschen am besten geeignet [33]. Die nahe phylogenetische Verwandtschaft zum Menschen (konkordante Transplantation) ist aber auch ein ethischer Grund, um Primaten- sowohl menschliche als auch nichtmenschliche- nicht als Organspender zu bevorzugen [55]. Viele Arten von NHPs sind gefährdet und ihre Züchtung ist zudem sehr aufwändig und teuer. Die Organe von ausgewachsenen Tieren sind außerdem zu klein, um sie für eine Transplantation im Menschen zu verwenden [33]. Ein weiterer Grund ist die Gefahr der Übertragung von verschiedenen Krankheiten, verursacht beispielsweise durch Retroviren oder Herpesviren auf den Menschen [33, 56]. Aus diesen Gründen wird der NHP nicht als geeigneter Spender für xenogene Herztransplantationen gesehen [33, 55-57].

Das Schwein wird hingegen trotz der phylogenetischen Entfernung zum Menschen (diskordante Transplantation) aufgrund verschiedenster Faktoren als geeigneter Organspender gesehen (Tabelle 2). Die frühe Geschlechtsreife (im Alter von 5-6 Monaten), kurze Tragzeiten (circa 114-116 Tage) und hohe Wurfgrößen von durchschnittlich 10 Ferkeln sind vorteilhaft, um schnell eine ausreichende Anzahl an Tieren zur Verfügung zu stellen [57]. Außerdem sind die Kosten vergleichsweise gering. Ein weiterer Vorteil ist, dass das Schwein physiologische und anatomische Ähnlichkeiten zum Menschen aufweist. So sind funktionelle kardiovaskuläre und hämodynamische Parameter sehr ähnlich und auch die anatomische Verteilung der großen Herzgefäße und Koronararterien ist vergleichbar [57].

	Schwein	Pavian
Verfügbarkeit	unbegrenzt	eingeschränkt
Geschlechtsreife	4-8 Monate	3-5 Jahre
Tragzeit	114±2 Tage	173-193 Tage
Anzahl der Nachkommen	5-12	1-2
Wachstum	schnell	langsam
Größe der Organe	adäquat	inadequat (z.B. Herz)
Ähnlichkeit zu menschlicher Anatomie, Physiologie	moderat ähnlich	sehr ähnlich
Beziehung zu menschlichem Immunsystem	entfernt	eng
Notwendigkeit der Blutgruppenkompatibilität mit dem Menschen	vermutlich unwichtig	wichtig
Erfahrung mit genetischen Modifikationen	hoch	keine
Risiko der Übertragung von Xenozoonosen	gering	hoch
Verfügbarkeit von SPF-Tieren	ja	ja
Öffentliche Meinung	eher dafür	gemischt

Tabelle 2: Vor- und Nachteile des Schweines als Organspender. Vergleich zwischen Schwein und Pavian. SPF = spezifisch pathogenfrei; entnommen und ins Deutsche übersetzt von Cooper et al. [18].

Im Gegensatz zum Primaten besteht ferner ein geringeres Infektionsrisiko von Zoonosen. Schweine können einfacher unter spezifisch-pathogenfreien Bedingungen gehalten werden, was die Gefahr der Übertragung von zoonotischen Erregern stark reduziert. Die Verwendung von genetischen Modifikationen beim Schwein ist bereits gut erforscht, wodurch beispielsweise Abstoßungsreaktionen oder physiologische Inkompatibilitäten verringert werden können [18].

Da das Schwein als lebensmittellieferndes Tier genutzt wird und dies auch gesellschaftlich anerkannt ist, spielen ethische Bedenken eine eher untergeordnete Rolle [58]. In einer Bürgerbefragung kamen die Teilnehmenden zu dem Ergebnis, dass der Nutzen der Xenotransplantation die Risiken überwiegt. Die meisten Teilnehmer/-innen hielten es für angebracht das Leben eines Tieres zu opfern, um

einen Menschen zu retten. Ein wichtiger Aspekt war dabei aber auch die Verbesserung von Haltungsbedingungen und Tierschutz [58].

3.3. Transgene Schweine

Die Züchtung von genetisch modifizierten Schweinen war ein bedeutender Schritt zur Realisierung von Organtransplantationen vom Schwein in den NHP [43]. Auch für die Transplantation von Schweineorganen in den Menschen werden genetische Modifikationen essenziell sein, um Abstoßungsreaktionen zu verhindern [43]. Mit modifizierten Schweinen als Organspender für die Xenotransplantation konnte das Graft-Überleben in NHPs von wenigen Minuten bis hin zu Monaten verlängert werden [31, 59]. Bei Transplantation von Organen von Wildtyp-Schweinen (ohne genetische Modifikation) setzte innerhalb kurzer Zeit eine HAR ein [36, 43].

Diese Reaktion wird, wie schon besprochen, durch die Bindung von präformierten Antikörpern des NHP an das α Gal-Epitop des transplantierten Schweinorgans induziert und führt durch Aktivierung der Komplementkaskade zur HAR [33, 35, 36]. Durch Deletion des Enzyms α 1,3-Galaktosyltransferase (GGTA1), das das α Gal-Epitop synthetisiert, konnten Schweinelinien gezüchtet werden, die GGTA1 nicht exprimieren. Diese GGTA1-Knockout (GGTA1 KO) Schweine werden als die Basis für zusätzliche genetische Modifikationen gesehen [36, 43, 60].

Weitere wichtige Xenoantigene sind die N-Acetylneuraminsäure (Neu5Gc), synthetisiert durch Cytidin Monophosphat-N-Acetylneuraminsäure Hydroxylase (CMAH) und ein „Sd(a)-like“ Glykan, synthetisiert durch porzine Beta-1,4-N-acetylgalactosaminyltransferase 2 (B4GALNT2) [60, 61]. Diese spielen im experimentellen Modell von Schwein und Pavian keine Rolle, da der Pavian als Empfänger diese Antigene trägt und folglich keine Antikörper dagegen bildet [43, 62]. Im Gegensatz zum NHP besitzt der Mensch diese Antigene jedoch nicht, weshalb bei der zukünftigen klinischen Xenotransplantation von Schweineorganen in den Menschen sowohl Neu5Gc, als auch B4GALNT2 ausgeknockt werden müssten, um eine Bildung von Antikörpern zu verhindern [61, 62]. Es wurden bereits Schweinelinien mit diesen Knockouts generiert [60].

Auch das Einfügen bestimmter Gene in das Genom der Spendertiere erhöhte die postoperative Überlebensdauer von NHPs im Tierversuch [43]. Um das Graft vor Komplement-medierten Schäden zu schützen, wurden transgene Schweine generiert, die humane Komplement-Regulatorproteine wie CD46 (Membrankofaktorprotein), CD59 (Protektin) und CD55 („complement decay

accelerating factor“) exprimieren, um eine Aktivierung des humanen Komplementsystems zu unterdrücken [43]. Wie im Review von Lambregts et al. beschrieben, konnten White und Kollegen durch eine Expression von humanem CD55 in Tierversuchen vom Schwein auf den Primat mit transplantierten Schweinenieren und heterotop transplantierten Schweineherzen ein längeres Überleben erzielen [63]. Die Expression von einem oder mehreren humanen Komplement-Regulatorproteinen in Kombination mit einem GGTA1-KO in Donorschweinen unterband eine HAR in Studien mit NHPs [43, 60].

Um Gerinnungsstörungen entgegenzuwirken wurden humane antithrombotische und antikoagulatorische Regulatorproteine der Gerinnungskaskade im Schwein exprimiert. Mehrfach transgene Schweine wurden gezüchtet, die zusätzlich zu GGTA1-KO und humanen Komplement-Regulatorproteinen auch verschiedenste antikoagulatorische Transgene ausbildeten, wie humanes Thrombomodulin (hTM), Endothelprotein C, „tissue factor pathway inhibitor“ und CD39 [43, 50, 60]. Insbesondere die Expression von hTM in Donorschweinen war ein wichtiger Schritt zur Verhinderung von Koagulopathien [34].

Mohiuddin et al. konnten im heterotop abdominalen Transplantationsmodell die Funktion eines dreifach genetisch modifizierten Schweineherzens (GGTA1-KO, Expression von hCD46 und hTM) im Pavian über 945 Tage erhalten [59]. Mit den gleichen genetischen Modifikationen und einem leicht abgewandelten immunsuppressiven Regime erreichten Längin et al. im lebenserhaltenden orthotopen Modell ein Überleben des Empfängerpavians von 195 Tagen [31].

Wie viele genetische Modifikationen für eine klinische Anwendung notwendig sind, kann noch nicht vollständig eingeschätzt werden. Bei der ersten Transplantation eines Schweineherzens in einen Menschen war das Donorschwein 10-fach genetisch modifiziert [14].

3.3.1. Xenozoonosen

Durch die Xenotransplantation von Organen oder Zellen besteht die Gefahr der Übertragung von Mikroorganismen (Bakterien, Viren und Pilze) vom Spendertier in die Empfängerspezies. Diese Mikroorganismen könnten sich an den Wirt anpassen und so zu einer Erkrankung führen (Zoonose bzw. Xenozoonose) [60].

Ein Virus, das Auswirkungen auf den Erfolg der Xenotransplantation sowohl im NHP als auch im Menschen haben könnte, ist das porzine Cytomegalievirus

(PCMV). Dieses Virus gehört zu der Familie der Herpesviridae, Subfamilie Betaherpesviren und Genus Roseolovirus [64]. Es ist enger verwandt mit den humanen Herpesviren 6 und 7 (HHV-6, HHV-7) als mit dem humanen Cytomegalievirus (hCMV) [64]. Das Virus kann bei Schweinen in allen Geweben des Körpers gefunden werden und wird über alle Körperflüssigkeiten (z.B. Blut, Speichel, Urin, Sperma) ausgeschieden [64]. Die Ferkel infizieren sich meistens perinatal durch die Muttersau oder postnatal über Tiere die Virusausscheider sind [65]. PCMV kann zwar die Plazentaschranke überwinden und so die ungeborenen Ferkel infizieren, laut Egerer et al. gibt es jedoch keine bewiesenen Fälle einer solchen diaplazentaren Infektion [66]. In genannter Studie brachten auch PCMV-positiv getestete Sauen PCMV-negative Ferkel zur Welt. Bei Schweinen verläuft die Infektion meistens subklinisch. Bei einer Infektion der Sau im späten Trächtigkeitsstadium kann es zu Aborten, mumifizierten Früchten und der Geburt lebensschwacher Ferkel führen [64]. Ein Frühabsetzen der Ferkel 24 Stunden nach Geburt konnte eine PCMV-Übertragung vom Muttertier auf das Ferkel verhindern. Weitere Möglichkeiten um eine Infektion zu unterbinden sind die Durchführung eines Kaiserschnitts und Embryotransfer [66]. PCMV kann mittels real-time PCR nachgewiesen werden. Wie alle Herpesviren kann PCMV jedoch in Latenz gehen und ist dann nicht mehr mit PCR nachweisbar [67, 68]. Unter diesen Voraussetzungen ist ein Western-Blot zum Nachweis von Antikörpern essenziell. PCMV konnte in Pavianen nach xenogener Herztransplantation nachgewiesen und mit einer geringeren Überlebensrate in Verbindung gebracht werden [69]. Beim ersten Empfänger eines Schweineherzens in den USA wurde nach der Transplantation PCMV im Schweineherzen nachgewiesen [14].

Ein weiteres Virus mit zoonotischem Potential ist das porzine endogene Retrovirus (PERV). Dieses ist dem humanen endogenen Retrovirus (HERV) sehr ähnlich und im Genom von allen Schweinen integriert [70]. Es könnte hypothetisch bei einer xenogenen Transplantation übertragen werden. Das Virus ist für den Wirt selbst im Normalfall ungefährlich, es gibt keinerlei Hinweise für Gesundheitsprobleme beim Schwein oder Menschen ausgelöst durch PERV bzw. HERV [33].

Es gibt drei Subtypen von PERV: PERV-A, PERV-B und PERV-C [70]. Der Subtyp PERV-C kommt im Gegensatz zu den anderen Typen nicht in allen Schweinen vor und infiziert zudem nur Schweinezellen. Es besteht die Gefahr, dass es zu einer Rekombination zwischen PERV-A und -C kommt und so ein für den

Menschen bzw. das Schwein pathogenes Virus entsteht. In vitro konnten humane Zellen mit dem rekombinanten PERV A/C Virus infiziert werden [33, 69, 70].

Es gibt verschiedene Strategien, um eine Übertragung von PERV zu verhindern, wie z.B. die Selektion von PERV-C freien Tieren (Verhinderung der Rekombination), die Selektion von Schweinen mit einer geringen PERV-Expressionsrate oder mittels genetischer Modifikation [68]. Mit Hilfe der CRISPR/Cas9 Technologie konnten beispielsweise alle PERV-Kopien im Schweinegenom inaktiviert werden und mittels Kerntransfer somatischer Zellen gesunde Ferkel produziert werden [60]. Bis jetzt konnte in präklinischen Studien keine Übertragung von PERV auf den Pavian beobachtet werden. Deshalb ist es nach wie vor unklar, ob eine Inaktivierung dieses Virus im Genom notwendig ist [64, 69].

4. Ergüsse nach orthotoper Herztransplantation

4.1. Pleuraergüsse

Neben Pneumonien und Bronchitiden, treten postoperativ insbesondere Pleuraergüsse nach orthotopen Herztransplantationen regelmäßig auf [71-73].

Sie können bereits früh in den ersten 30 Tagen nach der Operation, oder als Spätkomplikation auftreten [72]. Laut einer Studie liegt die Prävalenz von Pleuraergüssen im ersten Jahr nach orthotoper Herztransplantation bei 85%, wobei Ergüsse mit den größten Volumina in der ersten Woche nach Transplantation auftreten [73]. Meistens sind die Ergüsse bilateral, in weniger als 20% der Fälle treten sie unilaterals auf [72].

Oftmals bleiben diese Ergüsse klein und harmlos und resorbieren sich spontan von selbst, ohne dass sie einer Behandlung bedürfen [72, 73]. Laut Ulubay et al. gibt es keine Relation zwischen den Überlebensraten von transplantierten Patienten und dem Vorhandensein von Pleuraergüssen [72].

In einer Studie zur Entwicklung von Pleuraergüssen nach Herzoperationen wurden die entstandenen Pleuraergüsse im Mittel für fünf Tage drainiert, die Mehrheit davon innerhalb der ersten sieben Tagen nach der Operation (73,8%) [74]. Frühe Ergüsse bis zum 15. postoperativen Tag waren in der Regel hämorrhagisch, wohingegen der Anteil an Erythrozyten bei später auftretenden Ergüssen sank [74]. Für die Entstehung von Pleuraergüssen nach orthotoper Herztransplantation werden verschiedenste Gründe genannt. Traumata während der Operation, wie eine Verletzung der Lymphgefäße oder der Pleura, können die Bildung von Ergüssen begünstigen [72-74]. Des Weiteren können Blutungen, Transplantatversagen und Dysfunktionen des Zwerchfells aufgrund von Verletzungen des N. phrenicus und die Entwicklung einer Mediastinitis eine Rolle spielen [75]. Eine Infektion mit Bakterien, Viren, Pilzen und Protozoen kann nach Transplantation bei immunsupprimierten Patienten Pneumonien und Pleuraergüsse auslösen [72, 75]. Die Pleuraergüsse können dabei in Verbindung mit einer Lungenentzündung oder isoliert auftreten [72, 73, 75].

Ein weiterer möglicher Grund für das Entstehen von Pleuraergüssen nach Herztransplantationen ist das Postperikardiotomie-Syndrom (PPS) [73, 76]. Nach Schädigung von Herzmuskelgewebe durch die Operation kommt es zur Freilegung von Antigenen, die von Auto-Antikörpern angegriffen werden können. Neben Perikardergüssen (siehe Kapitel 4.2), Fieber und Brustschmerzen treten dabei auch

häufig exsudative Pleuraergüsse auf [77].

Auch verschiedenste Medikamente, darunter auch Immunsuppressiva wie Tacrolimus und Mycophenolatmofetil, können bei Transplantatempfängern die Bildung von Pleuraergüssen hervorrufen [72].

4.2. Perikardergüsse

Perikardergüsse treten nach orthotopen Herztransplantationen häufig auf. In 56% der Fälle treten sie früh nach der Transplantation auf und werden meistens mit Blutungen in Verbindung gebracht, Herzbeuteltamponaden sind dabei selten [78]. Meistens werden diese Ergüsse spontan, innerhalb der ersten drei Monate resorbiert [79]. Eine spätere Entwicklung von Perikardergüssen wurde mit dem PPS in Verbindung gebracht [78]. Die Entstehungsursachen und Prognose von Perikardergüssen nach orthotoper Herztransplantation sind bis heute noch nicht vollständig geklärt. Es werden verschiedenste Ursachen diskutiert. Unter anderem spielen eine verlängerte Ischämiezeit des Donor-Organs [79], die Gabe von Cyclosporin [80] und ausgeprägte Größenunterschiede zwischen Spender und Empfänger eine Rolle [81]. Bei Patienten, die zuvor keine herzchirurgischen Eingriffe hatten, wurden zudem häufiger Perikardergüsse beobachtet [81, 82]. Ob die Entwicklung einer akuten Abstoßung die Bildung von Perikardergüssen nach einer Herztransplantation begünstigt, wird kontrovers diskutiert. Valantine et al., Ciliberto et al. und Sun et al. beschreiben einen kausalen Zusammenhang zwischen einer akuten Abstoßungsreaktion und zunehmenden Perikardergüssen [78, 83, 84]. Es wird davon ausgegangen, dass sowohl das Perikard als auch das Epikard, an der Inflammationsreaktion und raschen Zunahme von Ergussvolumen beteiligt sind [78]. Ciliberto et al. sehen einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von späten Perikardergüssen und einer akuten Abstoßung [84]. Andere Studien hingegen konnten keinen Zusammenhang zwischen Perikardergüssen und akuter Abstoßung erkennen [79, 81, 85].

5. Anatomie und Physiologie von Pleura und Perikard

5.1. Anatomischer Aufbau der Pleura

Die Pleura ist eine ca. 0,2-0,4 mm dicke seröse Haut, welche die Brusthöhle (Pleura parietalis) und die Oberfläche der Lunge (Pleura visceralis) bedeckt [86]. Dadurch wird eine enge Pleurahöhle (oder auch Pleuraspalt) gebildet, die sich rechts und links des Mediastinums befindet und die beiden Lungen umgibt. Im Mediastinum liegen Herz, Thymus, Trachea, Oesophagus und die Leitungsbahnen (Nerven, Venen, Arterien und Lymphgefäße) [87]. In Abbildung 3 wird der Aufbau der Brusthöhle schematisch dargestellt.

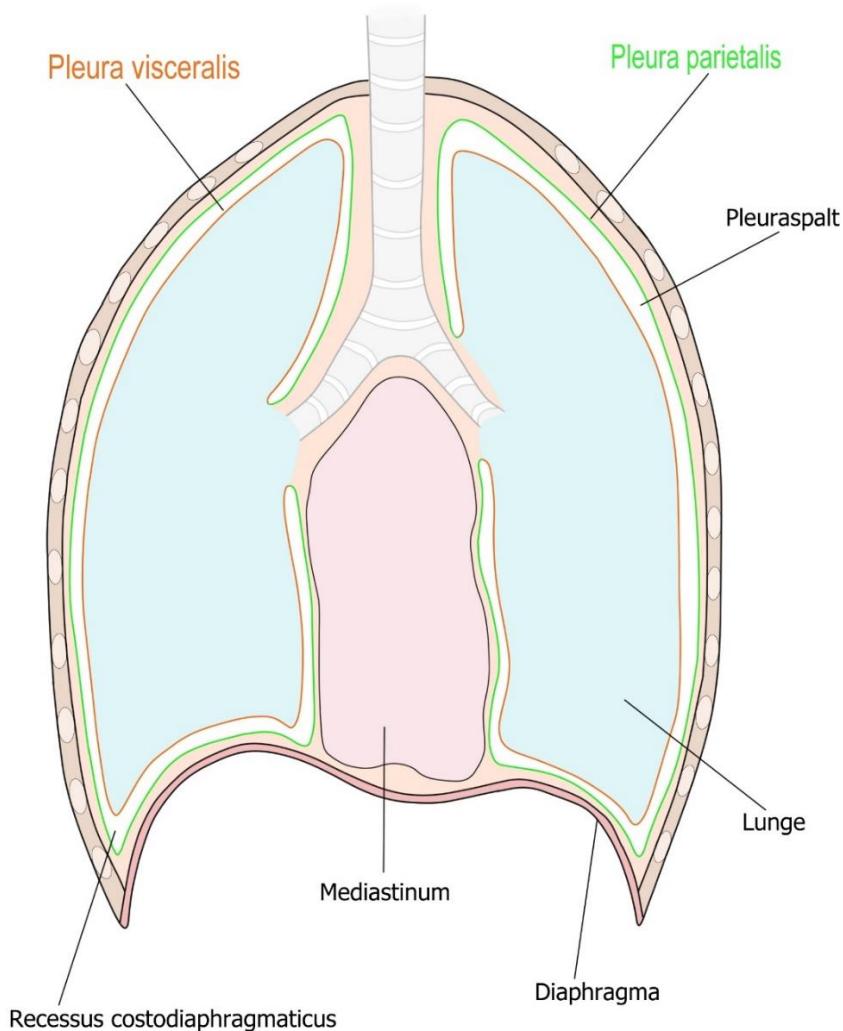


Abbildung 3: Schematischer Aufbau der Brusthöhle - eigene Zeichnung.

Die Pleura parietalis besteht aus der Pleura costalis, der Pleura mediastinalis und der Pleura diaphragmatica [87, 88]. Sie überzieht also die Rippen, das Mediastinum und das Zwerchfell. Am Hilus pulmonalis geht die Pleura parietalis über das Ligamentum pulmonale in die Pleura visceralis über. Die Pleura visceralis bildet das Lungenfell und bedeckt die äußere Oberfläche der Lungen. Im Bereich der cranialen Thoraxöffnung gehen Pleura costalis und Pleura mediastinalis in den kuppelförmigen Cupulae pleurae ineinander über [87, 88].

Die Dicke der viszeralen Pleura ist innerhalb verschiedener Spezies unterschiedlich. Hunde, Katzen und Affen haben eine dünne viszerale Pleura, wohingegen Menschen, Schafe, Schweine und Pferde eine dickere viszerale Pleura besitzen [89].

Die Pleura besteht aus einem einschichtigen Plattenepithel aus Mesothelzellen, die miteinander durch Desmosomen verbunden sind und an ihrer Oberfläche Mikrovilli tragen. Darunter folgt eine dreischichtige Bindegewebsschicht, die Tela subserosa, die Blut-, Lymphgefäß und Fettgewebe miteinschließt. Die Pleura parietalis ist im Gegensatz zur Pleura visceralis von einem Netz sensibler Nervenfasern durchzogen und deshalb hochsensibel und schmerzempfindlich [87, 90].

Die Lymphgefäß der Pleura visceralis verlaufen lungennah in der Tela subserosa. In der parietalen Pleura befinden sich Lymphstomata, die den kapillären Pleuraspalt direkt an das Lymphsystem anschließen. Diese spielen eine entscheidende Rolle bei der Flüssigkeitsbewegung im Pleuraspalt [90].

5.2. Physiologische Bildung und Zusammensetzung von Pleuraflüssigkeit

Im Pleuraspalt von gesunden Erwachsenen befinden sich physiologisch ca. 5-20 ml Flüssigkeit [91, 92]. Diese geringe Menge an Pleuraflüssigkeit verteilt sich über die gesamte Pleuraoberfläche und ist mittels bildgebender Verfahren nicht darstellbar. Größere Mengen können aber auch frei innerhalb des Pleuraspalts, meist in die Recessus costodiaphragmatica, um den Hilus und an den Lappenrändern der Lunge auslaufen [92].

Die physiologische Pleuraflüssigkeit ist ein klares Ultrafiltrat. Ihr pH- Wert liegt bei 7,60-7,64, der Proteingehalt bei 1-2 g/dl. Der Gehalt an Glucose ist ähnlich wie im Blutplasma, dagegen liegt der Gehalt von Laktatdehydrogenase (LDH) unter 50% des Plasmagehaltes. Die Anzahl an Leukozyten liegt bei weniger als 100/ml³ [93].

Die Pleuraflüssigkeit entstammt dem Interstitium der Lunge, den pleuralen

Kapillaren, den Lymphgefäßen der Thoraxwand und der Peritonealhöhle [90]. Sie wird ständig sezerniert und reabsorbiert; im Schnitt werden 0,01 ml/kg/h produziert und absorbiert, so dass das Volumen im Pleuraspalt konstant bleibt [94].

Bei der Bildung und Reabsorption der Pleuraflüssigkeit kann man fünf funktionelle Kompartimente unterscheiden: die systemische Mikrozirkulation der parietalen Pleura, das Interstitium der parietalen Seite, den Pleuraspalt, das Lungeninterstitium und die viszerale Mikrozirkulation (sowohl systemisch als auch pulmonal). Separiert werden die genannten Kompartimente durch Membranen, dem Kapillarendothel und der Mesothelzellschicht, jeweils von parietaler und viszeraler Pleura [95].

Im Pleuraspalt herrscht ein mit der Atmung wechselnder subatmosphärischer Druck, welcher die Lunge entfaltet hält. Er kommt durch die elastische Rückstellkraft der Lunge und die expandierende Kraft der Thoraxwand zustande, aber auch durch die ständige Absorption von Pleuraflüssigkeit über die subpleuralen Kapillaren und die Lymphgefäße [90]. Die Pleuraflüssigkeit wirkt außerdem als eine Art Gleitmittel und sorgt bei der Atmung für ein reibungsloses Lungengleiten [89].

Nach dem Gesetz von Starling basiert mikrovaskulärer Flüssigkeitsaustausch auf einem Gleichgewicht zwischen hydrostatischem und onkotischem Druck [96]. Flüssigkeiten bewegen sich durch Gefäßwände entsprechend der Wandpermeabilität, sowie dem effektiven Filtrationsdruck. Letzterer beschreibt den Druckunterschied zwischen Kapillaren und Interstitium [90].

Unter physiologischen Verhältnissen entsteht so ein Flussgradient von den parietalen Kapillaren in das extrapleurale Interstitium und von dort in den Pleuraspalt. Durch den niedrigeren Druckgradienten in den viszeralen Kapillaren kommt es dort zum Abfluss über die Pulmonalvenen und nicht in den Pleuraspalt (Abbildung 4) [90, 95].

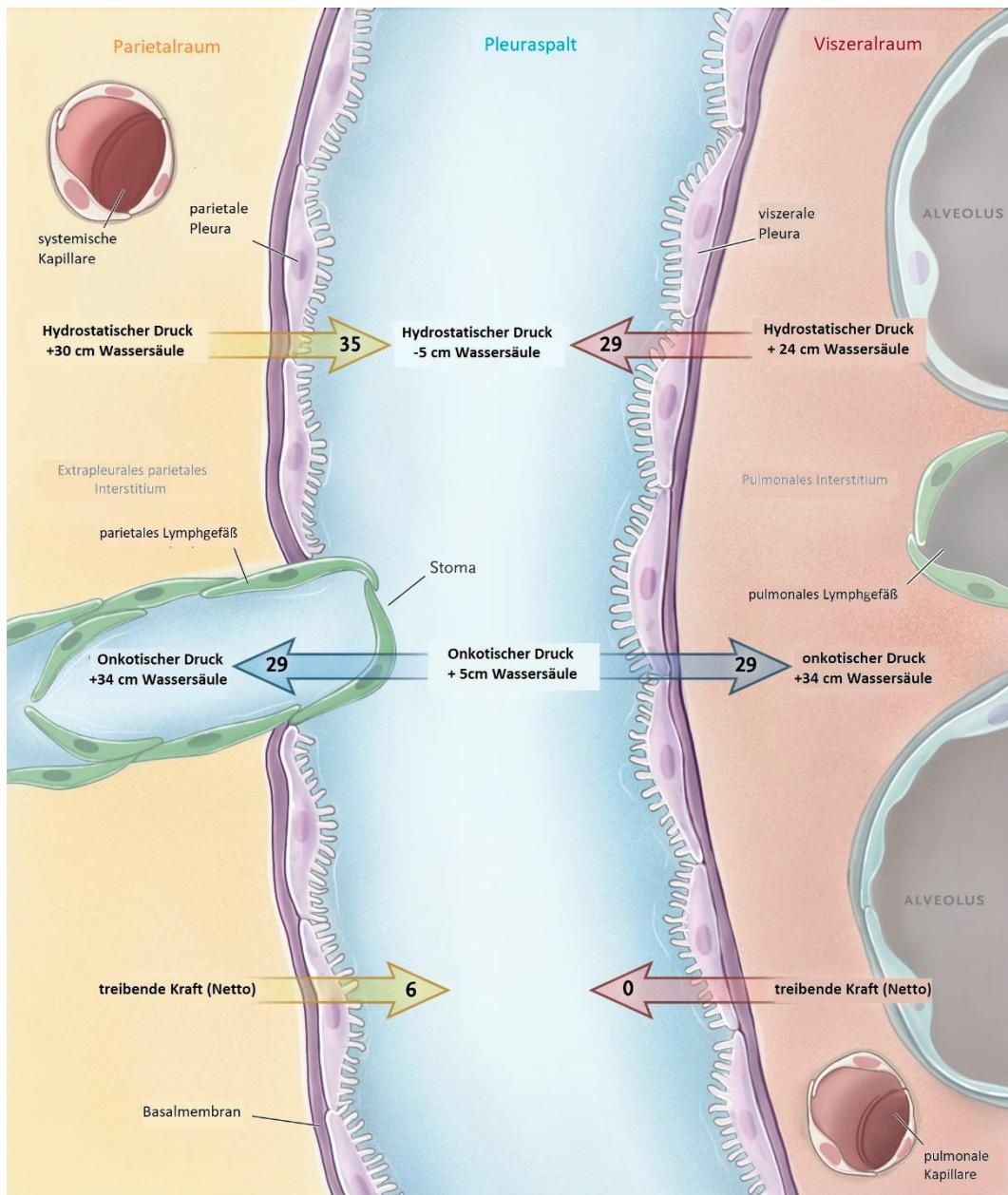


Abbildung 4: Physiologische Bewegungen der Pleuraflüssigkeit; ins Deutsche übersetzt, mit freundlicher Genehmigung von Massachusetts Medical Society [97]

Der onkotische Druck ist in beiden Pleurablättern mit jeweils $24 \text{ cmH}_2\text{O}$ gleich groß, während er in der Pleuraflüssigkeit aufgrund ihres niedrigen Proteingehalts bei $+5 \text{ cmH}_2\text{O}$ liegt. Der hydrostatische Druck in der parietalen Pleura ist größer als der in der viszeralen Pleura ($30 \text{ cmH}_2\text{O}$ zu $24 \text{ cmH}_2\text{O}$), da die viszeralen Kapillaren in die Pulmonalvene drainieren. Dadurch ergibt sich ein Nettodruck von $+6 \text{ cmH}_2\text{O}$ für den Abfluss der Flüssigkeit über die parietale Pleura [98].

Die Stomata der Lymphgefäße der parietalen Pleura sind für die Rückresorption des größten Teils der Flüssigkeit zuständig (ca. 75%) [95]. Ein kleinerer Teil wird von den Venolen absorbiert oder bleibt im Pleuraspalt zurück [94, 97].

Bei Tieren mit dünner viszeraler Pleura, wie z.B. bei Hund und Affe, wird die

Pleuraflüssigkeit auch über die Kapillaren der viszeralen Pleura absorbiert [89].

Bei vermehrter Bildung von Pleuraflüssigkeit können die Lymphgefäß die Absorptionsrate ungefähr um den Faktor 20 steigern und weisen dadurch eine große Reservekapazität auf [95, 97, 99]. Beim Menschen kann die Maximalkapazität vermutlich bis zu 500 ml/24h pro Thoraxhälfte gesteigert werden, bis sich ein Pleuraerguss entwickelt [98].

5.3. Anatomischer Aufbau des Perikards

Wie die Pleura, besteht auch das Perikard aus einem parietalen und einem viszeralen Blatt. Das Perikard ist 0,8-1,0 mm dick [100]. Die Lamina visceralis besteht aus einer einschichtigen Mesothelzellschicht, ist fest mit dem Epikard verbunden und bedeckt die Herzkratzgefäß, Venen, Nerven, lymphatischen Gefäß und das Fett der Herzoberfläche. Oberhalb der großen Blutgefäß, an der Herzbasis schlägt die Lamina visceralis in die Lamina parietalis um und umschließt das Herz [87, 100]. Dabei werden auch die großen Gefäß von Serosa umkleidet. Außerhalb der Lamina parietalis befindet sich das Pericardium fibrosum, eine derbe Kollagenfaserschicht [87, 100].

Der Herzbeutel ist über mehrere Ligamente im Brustkorb aufgehängt. Das Pericardium fibrosum wird von der Pleura mediastinalis überzogen, die an dieser Stelle Pleura pericardiaca genannt wird [87]. Zwischen dem parietalen und dem viszeralen Blatt befindet sich der Perikardspalt mit Perikardflüssigkeit. Zwischen der Pulmonalarterie und der Aorta entsteht ein Herzbeuteldurchgang, der Sinus transversus pericardii und zwischen den Pulmonalvenen und der Vena cava cranialis liegt die Ausbuchtung des Sinus obliquus pericardii [87]. In diesen Ausbuchtungen kann sich das perikardiale Reservevolumen erweitern, das physiologische Füllungsunterschiede der Herzkammern ausgleicht [100].

5.4. Physiologische Bildung und Zusammensetzung von Perikardflüssigkeit

Das Perikard limitiert die kardiale Füllung, vor allem die des rechten Ventrikels und der beiden Atrien aufgrund deren geringer Wandstärke. Dadurch trägt es zum diastolischen Kammerdruck und der Kontraktion der Atrien bei. Zusätzlich verstärkt es die Interaktion der beiden Ventrikel [100]. Das Perikard dient zudem als Barriere gegenüber Infektionserregern [100].

Der Perikardspalt enthält physiologisch bis zu 50 ml Perikardflüssigkeit, die von

den Mesothelzellen gebildet wird [100]. Diese dient als Gleitmittel zwischen parietalem und viszeralem Blatt. Sie ist hauptsächlich ein Ultrafiltrat des Plasmas der epikardialen und parietalen perikardialen Kapillaren, sowie der interstitiellen Flüssigkeit des Myokards [101]. Dieser Filtration liegt, wie auch bei der Pleuraflüssigkeit, das Gleichgewicht zwischen hydrostatischem und onkotischem Druck zugrunde (genauer beschrieben in Kapitel 5.2) [101]. Die Druckunterschiede (hydrostatisch und onkotisch) zwischen den Gefäßen, dem Interstitium und den Lymphgefäßen innerhalb des Herzens führen zu einer Flüssigkeitsverschiebung des Plasmafiltrates von den koronaren Kapillaren in das myokardiale Interstitium und letztlich in das myokardiale lymphatische System. Der Druck im Perikardspalt nimmt während der Diastole zu und während der Systole ab. Dies sorgt, zusammen mit den atemabhängigen Druckunterschieden während Inspiration und Exspiration, für eine konstante Flüssigkeitsbewegung [102]. Lymphgefäße entlang des parietalen Perikards und des Epikards drainieren die Perikardflüssigkeit. Sie haben eine hohe Absorptionskapazität und können diese bei Druck- oder Volumenerhöhung bis um das Vierfache steigern [102].

Das Mesothel des Perikards produziert zudem Endothelin, Prostaglandin E₂, Eikosanoide, Prostazyklin, Angiotensin II und Bradykinin. Die Perikardflüssigkeit enthält ANP (atriales natriuretisches Peptid) und BNP (B-natriuretisches Peptid) in höheren Konzentrationen als im Blutplasma [100]. Der mittlere LDH-Wert liegt in physiologischer Perikardflüssigkeit 2,4-fach oberhalb des Serumlevels, wohingegen das mittlere Proteinlevel 0,6-fach niedriger als im Serum ist [103].

6. Pathogenese, Ätiologie und Symptome von Pleura- und Perikardergüssen

6.1. Pleuraergüsse

Das Volumen und die Zusammensetzung der Pleuraflüssigkeit sind sehr stabil. Um dieses Gleichgewicht zu stören, muss es zu massiven Veränderungen von Flüssigkeitsproduktion und/oder ihrer Zusammensetzung kommen [95].

Das Lungeninterstitium hat im Vergleich zum Pleuraspalt eine geringe mechanische Compliance [95]. Die Bildung von Flüssigkeit muss dort einer strengen Kontrolle unterliegen, da sonst der Gasaustausch nicht mehr gewährleistet werden kann. Eine erhöhte Filtration führt zu einem erhöhten pulmonalen Druck, verhindert so eine weitere Filtration und ist der Bildung von pulmonalen Ödemen entgegengesetzt [95]. Der Pleuraspalt hingegen besitzt eine hohe Compliance. Der einzige Kontrollmechanismus sind die Lymphgefäße. Bei vermehrtem Flüssigkeitsangebot kommt es zu einem negativen Feedbackmechanismus und zu einer Erhöhung der Filtrationsleistung der Lymphkapillaren. So werden Störfaktoren ausgeglichen [95].

Pleuraergüsse entstehen entweder, wenn zu viel Pleuraflüssigkeit gebildet oder zu wenig absorbiert wird und die Filtrationsleistung der Lymphkapillaren überfordert wird. Meistens handelt es sich um eine Kombination aus beiden Varianten [94].

Die pathologische Ansammlung von Pleuraflüssigkeit stellt keine eigenständige Erkrankung dar, sondern ist eine Begleiterscheinung von Erkrankungen der Lunge, der Pleura und systemischen Erkrankungen. Pleuraergüsse können akut oder chronisch auftreten [93, 104]. Die häufigsten Ursachen für Pleuraergüsse sind Herzinsuffizienz, Malignome, Pneumonien oder Lungenembolien [99].

Bei pulmonalen Ödemen kommt es zu einer Verschiebung der Flüssigkeit über die viszerale Pleura in den Pleuraspalt. Dies kann bei Herzinsuffizienz, Pneumonien, Lungenembolien, Acute Respiratory Distress Syndrome und nach Lungentransplantationen auftreten [89, 93].

Auch eine Erhöhung des hydrostatischen Druckgradienten zwischen Gefäßinnendruck und dem Druck im Pleuraspalt kann Pleuraergüsse verursachen. Ein erhöhter Gefäßinnendruck entsteht bei Herzinsuffizienz, Perikardergüssen und Superior Vena Cava Syndrom. Eine Reduzierung des Drucks im Pleuraspalt kommt

meist durch eine Obstruktion der Bronchien und damit verbundener Atelektase der unteren Lungenlappen oder der ganzen Lunge zustande [89, 93].

Wenn die Permeabilität der Kapillaren zunimmt oder es zu Gefäß- oder Lymphgefäßrupturen kommt, z.B. durch Inflammation, Tumore und Traumata, kommt es ebenfalls zu einer vermehrten Flüssigkeitsbildung im Pleuraspalt [89, 93]. Eine Obstruktion der Lymphgefäß kann zu einer verringerten Absorption von Pleuraflüssigkeit und dadurch zum Erguss führen. Ebenfalls verursacht ein verminderter onkotischer Druck durch Hypalbuminämie in den Gefäßen, wie beispielsweise bei Leberzirrhose oder nephrotischem Syndrom, Flüssigkeitsansammlungen im Pleuraspalt [89, 93]. Bei einem Peritonealerguss führen Defekte des Zwerchfells oder der Lymphgefäß zu einem Erguss im Pleuraspalt [89, 93]. Ein bereits bestehender Pleuraerguss begünstigt durch Anstieg des onkotischen Druckes auf Grund des erhöhten Proteinanteils in der Flüssigkeit die Ansammlung von weiterer Ergussflüssigkeit [89, 93].

Die Symptome eines Pleuraergusses werden von der zugrundeliegenden Erkrankung bestimmt. Viele Patienten mit Pleuraergüssen sind beschwerdefrei [99]. Die häufigsten Symptome sind atemabhängige Schmerzen, die durch die sensible Innervation der parietalen Pleura zustande kommen. Je nach Ergussmenge kann Dyspnoe auftreten, da das Lungenvolumen vermindert wird. Teilweise entwickelt sich auch ein trockener Husten [99, 105].

6.2. Perikardergüsse

Ein Perikarderguss ist als eine Flüssigkeitsansammlung im Perikardspalt von über 50 ml definiert [100]. Das klinische Erscheinungsbild hängt von dem Volumen und der Schnelligkeit der Entwicklung des Perikardergusses ab. Das Perikard ist nicht in der Lage sich schnell auszudehnen. So führt ein geringer, aber akuter Flüssigkeitsanstieg (z.B. bei traumatischen Ursachen) zu einem steilen Anstieg des Druckes im Perikard [106]. Bei einer langsamen Akkumulation von Perikardflüssigkeit kann sich das Perikard dehnen, bis auch hier die Compliance des Gewebes überschritten ist. Wird der Druck im Perikard zu hoch, kann sich eine Herzbeuteltamponade entwickeln [106]. Dieser akute Zustand ist lebensbedrohlich. Dabei werden die Ventrikel und Vorhöfe durch den Erguss komprimiert, so dass das diastolische Volumen stark eingeschränkt ist. Durch das reduzierte Schlagvolumen kommt es zu einem verringerten Herzminutenvolumen. Viele verschiedene Ursachen können zur Bildung eines Perikardergusses führen.

Grundsätzlich können diese in entzündliche und nicht-entzündliche Ursachen eingeteilt werden (Tabelle 3) [106, 107].

Entzündlich	Nicht-entzündlich
Infektiöse Ursachen: Viren: z.B. EBV, CMV Bakterien: z.B. Mykobakterien, Streptokokken, Staphylokokken, Mykoplasmien Pilze: Candida spp., Histoplasma spp. Protozoen: Echinococcus spp. Toxoplasma spp.	Neoplastisch (z.B. Mesotheliom, Sarkom, Lungenkarzinom)
„Post-cardiac injury syndrome“ (Postmyokardinfarktperikarditis, PPS, posttraumatische Perikarditis)	Metabolisch (z.B. Hypothyreoidismus)
Autoimmune Ursachen (z.B. Systemischer Lupus Erythematosus, Rheumatoide Arthritis)	Traumatisch (z.B. iatrogen, Aortendissektion, Komplikationen bei herzchirurgischen Eingriffen)
Urämische Perikarditis	Reduzierter Lymphabfluss: Herzinsuffizienz, Zirrhose, Nephrotisches Syndrom
Medikamentenüberempfindlichkeit	

Tabelle 3: Ursachen von Perikardergüssen nach Vakamudi et al. [106]. EBV = Eppstein Barr Virus; CMV = Cytomegalievirus; spp: = Spezies; PPS = Postperikardiotomiesyndrom

Patienten mit Perikarderguss können von kardiovaskulären Symptomen wie Druckgefühl im Thorax, Brustschmerzen, Synkopen und Palpitationen betroffen sein. Zusätzlich können auch Husten und Atemnot auftreten [108].

7. Arten von Pleuraergüssen

7.1.1. Transsudat und Exsudat

In der Humanmedizin werden Pleuraergüsse in Transsudat und Exsudat eingeteilt. Transsudate basieren auf einem Ungleichgewicht zwischen hydrostatischem und onkotischem Druck, sie sind Ultrafiltrate des Plasmas [109].

Exsudate sind die Folge von entzündlichen Zuständen, einer erhöhten Permeabilität der Gefäße und Membranen und verminderter lymphatischer Absorption [93].

In Tabelle 4 sind einige Differenzialdiagnosen für Exsudate und Transsudate dargestellt. Die Zuordnung in eine der beiden Kategorien bestimmt das weitere diagnostische und therapeutische Vorgehen.

Transsudat	Exsudat
Herzinsuffizienz	Neoplasie (Primärtumor oder Metastasen)
Leberzirrhose	Autoimmunerkrankungen (Lupus erythematoses, rheumatische Arthritis)
Nephrotisches Syndrom	Infektionskrankheiten (Tuberkulose, Viren, Bakterien, Pilze, Parasiten)
Superior-Vena-Cava Syndrom	Gastrointestinale Erkrankungen (Ösophagusperforation, Pankreatitis, Abszesse, Hepatitis)
Peritonealdialyse	Lungenembolien (Spätphase)
Lungenembolie (Frühphase)	Atelektase (Spätphase)
Atelektase (Frühphase)	Urämie
Glomerulonephritis	Herzerkrankungen (Postcardiac injury syndrome/PPS Syndrom, Perikarderkrankung, Pulmonalvenenstenose)
Hypoalbuminämie	Medikamente (z.B. Amlodipin)

Tabelle 4: Differenzialdiagnosen für Transsudate und Exsudate bei Pleuraergüssen, modifiziert nach Richard W. Light [97, 109]; PPS = Postperikardiotomiesyndrom

7.1.2. Chylothorax

Unter einem Chylothorax versteht man eine Ansammlung von Lymphflüssigkeit im Pleuraspalt. Meistens geschieht dies aufgrund eines Defektes des Ductus thoracicus oder eines anderen Lymphgefäßes des Thorax [110].

Ein Chylothorax kann aufgrund von traumatischen oder neoplastischen Ursachen entstehen und angeboren sein [110]. Am häufigsten entstehen Verletzungen durch chirurgische Interventionen, beispielsweise bei Lungenresektionen, Mediastinallymphknotendissektionen oder auch nach herzchirurgischen Eingriffen. Typisch ist ein Auftreten 1-2 Wochen nach dem chirurgischen Eingriff [110].

Der Ductus thoracicus transportiert mit dem Chylus die aufgenommenen Fette aus der Nahrung in das venöse Blutsystem [110]. Chylus besteht hauptsächlich aus Fetten, Cholesterin, Elektrolyten, Proteinen und Glucose. Auch Erythrozyten und Lymphozyten sind in der Lymphflüssigkeit vorhanden. Ihr alkalischer pH-Wert kann die Pleura reizen. Pro Tag werden ca. 2,5 l Chylus gebildet [110].

Durch einen Chylothorax können eine oder beide Lungenhälften komprimiert werden. Dies kann Auswirkungen auf die Pumpfunktion des Herzens haben [111]. Beim Verlust von größeren Mengen an Lymphflüssigkeit kommt es zu Malnutrition, Dehydratation, Hypoproteinämie und immunologischen Störungen [110].

7.1.3. Hämatothorax

Unter einem Hämatothorax versteht man eine Ansammlung von Blut im Pleuraspalt [112]. Meistens liegt ein Trauma zugrunde, beispielsweise penetrierende oder stumpfe Thoraxverletzungen [98, 112]. Ein Hämatothorax kann aber auch iatrogen als Komplikation von chirurgischen Eingriffen, wie z.B. bei kardiopulmonalen Operationen entstehen. Spontan kann er beispielsweise bei Pleurakarzinosen, rupturierenden Aortenaneurysmen oder unter Antikoagulanzientherapie bei Lungenembolie auftreten [98, 112].

7.1.4. Pyothorax

Der Begriff Pyothorax oder auch Pleuraempyem beschreibt eine Ansammlung von Eiter im Pleuraspalt aufgrund einer Entzündung, häufig als Begleiterscheinung einer bakteriellen Pneumonie [98]. Die Entzündung geht vom Lungenparenchym auf die Pleura visceralis über und ist anfangs meist noch steril (exsudatives

Stadium). Im weiteren Verlauf kann das Exsudat durch die Besiedelung mit Bakterien infiziert und purulent werden und es entwickelt sich ein Pleuraempyem (fibropurulentes Stadium) [98]. Die häufigsten Keime sind dabei Pneumokokken und Staphylokokken. Im letzten Stadium, dem Organisationsstadium, kann es durch bindegewebigen Umbau zur Kammerbildung kommen [98].

Empyeme können auch nach chirurgischen Eingriffen, nach Traumata, Thorakozentesen, Pleuradrainagen oder bei übergreifenden abdominellen Infektionen auftreten [98].

8. Diagnostik von Pleuraergüssen

Grundlage der Kategorisierung von Pleuraergüssen ist die Gewinnung von Pleuraflüssigkeit mittels Thorakozentese. Die gewonnene Flüssigkeit kann dann zuerst makroskopisch beurteilt werden, um danach die biochemischen Parameter für die Einteilung in Exsudat und Transsudat zu bestimmen [93, 94].

8.1. Makroskopische Beurteilung

Das makroskopische Aussehen des abgezogenen Pleuraergusses kann zur Diagnosefindung hilfreich sein, wie in folgender Tabelle 5 beschrieben:

Aussehen des Ergusses	Mögliche Diagnose
klar, durchsichtig, gelblich	Transsudate, gelegentlich klare Exsudate
rötlich, blutig	Hämatothorax
weißlich, milchig	Chylothorax/ Pseudochylothorax
gelblich, trüb	Pyothorax (Exsudat)
schwarz	Pilzinfektionen, z.B. Aspergillus
dunkelgrün	Gallenflüssigkeit - Biliothorax

Tabelle 5: Mögliche Diagnosen von Pleuraergüssen anhand ihres charakteristischen Aussehens, modifiziert nach Yalcin et al. [94].

Durch Zentrifugation kann man einen Chylothorax vom Empyem unterscheiden. Ein Chylothorax ist auch nach Zentrifugation noch milchig, beim Empyem bildet sich ein klarer Überstand [99].

Auch der Geruch des Ergusses kann Hinweise liefern. Empyeme und parapneumonische Ergüsse können einen üblichen Geruch aufweisen [113].

8.2. Die Light Kriterien in der Humanmedizin

Die chemische Untersuchung und Einteilung von Ergüssen mittels der Light Kriterien von 1972 ist bis heute die Standardmethode, um ein Transsudat von einem Exsudat zu unterscheiden [114]. Untersucht werden dabei die LDH im Pleuraerguss und zwei Quotienten, der Proteinquotient und der LDH-Quotient. Diese bildet man durch Division der Proteinkonzentration bzw. der LDH-Konzentration des Pleuraergusses, durch die jeweilige Konzentration im Serum [114]. Die LDH besteht aus fünf Isoenzymen und kommt in allen Geweben vor, weshalb sie eine geringe Organspezifität hat. Zu einer Erhöhung der LDH im Blut kommt es bei

Zellschädigungen [115].

Per Definition der Light Kriterien handelt es sich bei dem gewonnenen Pleuraerguss um ein Exsudat, wenn einer (oder mehrere) der drei Werte aus Tabelle 6 (LDH, LDH-Quotient und Proteinquotient) oberhalb der angegebenen Grenzwerte liegt. Sind LDH, LDH-Quotient und Proteinquotient gleich oder unterhalb der genannten Grenzwerte, handelt es sich um ein Transsudat [99, 109, 114]. Wenn ein Transsudat vorliegt und die zugrunde liegende Erkrankung bekannt ist, benötigt es meistens keiner weiteren Abklärung. Handelt es sich bei dem Pleuraerguss hingegen um ein Exsudat, müssen oft weitere chemische, mikrobiologische und zytologische Untersuchungen folgen, um mögliche Ursachen abzuklären [113].

Transsudat (alle Kriterien erfüllt)	Exsudat (mindestens ein Kriterium erfüllt)
LDH \leq 200U/L im PE	LDH $>$ 200U/L im PE
LDH-Quotient (PE/Serum) \leq 0,6	LDH-Quotient (PE/Serum) $>$ 0,6
Proteinquotient (PE/Serum) \leq 0,5	Proteinquotient (PE/Serum) $>$ 0,5

Tabelle 6: Einteilung von Exsudat und Transsudat nach den Light Kriterien[114]. PE= Pleuraerguss

Die Sensitivität der Light Kriterien liegt bei 98%, mit einer niedrigeren Spezifität von 74% [104]. Fast alle exsudativen Pleuraergüsse werden mittels dieser Kriterien korrekt zugeordnet. 20-25% der Transsudate werden jedoch fälschlicherweise als Exsudat klassifiziert [109]. Dies geschieht hauptsächlich bei Patienten, die eine diuretische Therapie aufgrund von Herzinsuffizienz erhalten. Die Diuretika führen zu einer Diffusion von Flüssigkeit aus dem Pleuraspalt ins Blut und erhöhen dadurch den Protein- und LDH-Gehalt der Pleuraflüssigkeit, so dass damit die diagnostischen Kriterien für Exsudate erfüllt werden [93, 104, 116].

In einer Metaanalyse untersuchten Heffner et al. verschiedene Grenzwerte und Parameter um Transsudate von Exsudaten zu unterscheiden [117]. Hierbei waren die Ergebnisse genauer, wenn statt einzelnen Parametern mehrere Parameter kombiniert wurden. Entfernte man den Absolutwert LDH im Erguss aus den klassischen Light Kriterien, änderte sich die diagnostische Leistung nicht. Die Parameter LDH-Quotient und LDH im Erguss zeigen eine hohe Korrelation, weshalb die Kombination von beiden die diskriminierenden Eigenschaften nicht signifikant erhöht [117, 118]. Der LDH-Absolutwert kann deshalb in den sogenannten „verkürzten Light Kriterien“ entfernt werden, ohne die diagnostische Genauigkeit einzubüßen, da diese ähnlich wie bei einer Verwendung der Light

Kriterien einzuschätzen ist [119].

8.3. Weitere biochemische Tests

Bei Verdacht auf einen Chylothorax, z.B. bei traumatischer Ruptur des Ductus thoracicus, können zusätzlich die Triglyceride und Cholesterin im Erguss gemessen werden. Ein Triglyceridgehalt von > 110 mg/dl und ein Cholesteringehalt von < 200 mg/dl weisen einen Chylothorax in 99% der Fälle nach [120].

Die Bestimmung des Hämatokrit-Wertes gibt Auskunft über den Anteil an Erythrozyten im Erguss. Ein Wert von über 50% des Blut-Hämatokrits gilt dabei als beweisend für einen Hämatothorax [93, 121].

9. Diagnostik von Perikardergüssen

Zur Diagnose von Perikardergüssen eignet sich eine echokardiographische Untersuchung [108, 122]. Die Ursache kann allerdings bei dieser Methode oft nicht eindeutig festgestellt werden. Eine diagnostische Perikardiozentese hingegen kann darüber Aufschluss geben [108, 122]. Vor allem bei Patienten mit Verdacht auf eine purulente Perikarditis oder Herzbeuteltamponade ist die Gewinnung von Perikarderguss zu diagnostischen aber auch zu therapeutischen Zwecken angezeigt [108]. Ist die abgezogene Flüssigkeit trüb, kann dies ein Hinweis auf einen infektiösen oder malignen Hintergrund sein [122]. Blutiger Perikarderguss verweist auf eine mögliche maligne oder tuberkulöse Ätiologie, wohingegen ein milchiger Erguss ein Chyloperikard signalisiert [122]. Die Messung von kardialen Enzymen wie Troponin im Serum kann bei akuter Perikarditis hilfreich sein, welches in diesem Fall häufig leicht erhöht ist. Typischerweise sinkt der Troponinwert innerhalb von 1-2 Wochen wieder auf den Normwert [108]. Eine Bakterienkultur ist bei Verdacht auf eine infektiöse Ursache angezeigt [108].

Im Gegensatz zu den gut etablierten biochemischen Untersuchungsverfahren für Pleuraergüsse, gibt es für die biochemische Beurteilung von Perikardflüssigkeiten nur wenige Untersuchungsmethoden [116]. In verschiedensten Studien wurde der Perikarderguss mit Hilfe der Light Kriterien in Transsudat und Exsudat eingeteilt. Burgess et al. konnten so die Perikardergüsse bei 105 von 112 Patienten korrekt zuordnen (Sensitivität 98%, Spezifität 72%) [123]. In einer retrospektiven Studie zeigten Meyers et al., dass exsudative und transsudative Perikardergüsse am besten durch eine Totalproteinkonzentration von $> 30\text{ g/L}$, einen Proteinquotienten von $> 0,5$, einer LDH $> 300 \text{ U/L}$ im Erguss und einen LDH-Quotienten von $> 0,6$ differenziert werden konnten. Die höchste diagnostische Genauigkeit hatte der LDH-Quotient (87%) [124]. In einer Studie von Cale-Subia et al. wurden alle Perikardergüsse durch die Light Kriterien als Exsudate klassifiziert. Dies lag hauptsächlich an den hohen LDH-Werten im Erguss [125].

Ben-Horin et al. fanden heraus, dass physiologische Perikardflüssigkeit eine höhere Konzentration von LDH aufweist (2,5-fach höher als im Serum) [103]. Nach den Light Kriterien liegen die meisten physiologischen Perikardflüssigkeiten schon im Bereich eines Exsudates [103]. Daraus lässt sich schließen, dass die Anwendung der Light Kriterien womöglich nicht für die Klassifizierung von Perikardergüssen

geeignet ist. Durch zwei weitere Studien konnte diese These gestützt werden [103, 126].

10. Spezifische laborchemische Parameter

10.1. Messung von „N-terminal pro B-Type natriuretic peptide“

Das „N-terminal pro B-Type natriuretic peptide“ (NT-proBNP) ist die inaktive Form von „brain natriuretic peptide“ (BNP). Im Vergleich mit BNP hat es eine bessere in-vitro Stabilität und eine längere Halbwertszeit [127]. Natriuretische Peptide werden von den Myozyten der Atrien und Ventrikel als Antwort auf Dehnungs- oder Druckreize produziert und sezerniert [128]. Erhöhte Werte können auf eine Herzinsuffizienz hinweisen [129]. Beim gesunden Menschen liegt der Grenzwert im Serum bei < 125 pg/ml [129].

Zur Identifizierung von Pleuraergüssen aufgrund von Herzinsuffizienz wurde in verschiedenen Studien das NT-proBNP nicht nur im Serum, sondern auch im Pleuraerguss gemessen [130-132]. Bei Patienten mit Pleuraergüssen aufgrund akuter dekompensierter Herzinsuffizienz waren die NT-proBNP Spiegel im Serum und Erguss bis zu zehnfach erhöht, im Gegensatz zu Patienten die Pleuraergüsse aufgrund einer nichtkardialen Ursache zeigten [131].

Darüber hinaus korrelieren die Konzentrationen von NT-proBNP in Serum und Erguss stark, sodass die diagnostische Effizienz für die Bestimmung von kardial bedingten Ergüssen identisch ist. Die Spiegel stimmen normalerweise in beiden Flüssigkeiten überein, weswegen es ausreicht, nur die NT-proBNP Konzentrationen im Serum zu bestimmen [130, 131, 133, 134]. Transsudate bedingt durch Herzinsuffizienz konnten durch die Bestimmung von NT-proBNP im Serum oder im Pleuraerguss mit hoher Wahrscheinlichkeit identifiziert werden [131]. Für die Praxis ist eine Bestimmung im Serum von Vorteil, da dafür keine Thorakozentese notwendig ist [128].

Eine Metaanalyse von Janda et al. schlägt für Ergüsse aufgrund von Herzinsuffizienz einen NT-proBNP Grenzwert im Pleuraerguss von ≥ 1500 pg/ml vor [127]. Sind die NT-proBNP Konzentrationen im Normbereich, kann man eine Herzinsuffizienz als Ursache der Pleuraergüsse ausschließen [133]. Die Bestimmung von NT-proBNP ist bisher noch kein Standard bei der Untersuchung von Pleuraergüssen [130].

10.2. Messung von Interleukin-6

IL-6 ist ein proinflammatorisches Zytokin und hat viele verschiedene Funktionen auf Zellen und Gewebe. Es wird von den Zellen des angeborenen Immunsystems produziert und spielt eine wichtige Rolle bei Inflammationsprozessen, wie beispielsweise der Induktion der „Akute Phase Proteine“ und bei der Synthese von Immunoglobulinen [135]. Es ist hauptsächlich für die Synthese des CRPs in den Hepatozyten verantwortlich [135]. Dieses wiederum aktiviert das Komplementsystem und fördert die Thrombozytenaggregation [135]. Der Grenzwert von IL-6 im Serum liegt bei $\leq 5,9$ pg/ml.

Die Bestimmung von IL-6 in der Pleuraflüssigkeit ist experimentell. Es gibt keine Grenzwerte für Transsudate oder Exsudate. Xirouchaki et al. fanden heraus, dass die IL-6 Konzentrationen in Exsudaten höher waren als in Transsudaten [136]. Sie vermuteten eine lokale Produktion von Zytokinen durch Entzündungszellen, die sich im Pleuraspalt anreicherten. Auch im Serum war IL-6 bei Patienten mit Exsudaten höher als bei Patienten mit Transsudaten [136]. In einer Studie von Yokoyama et al. wurden die IL-6 Werte von Serum und Erguss verglichen [137]: IL-6 war im Pleuraerguss höher als im Serum und könnte deshalb lokal im Pleuraspalt gebildet werden. Durch Diffusion in das Serum könnte es auch dort eine Entzündungsreaktion hervorrufen [137].

10.3. Messung von Troponin T high-sensitiv

Troponin T ist ein Protein des kontraktilen Apparates der Herzmuskelkultur und ist daher ein sensitiver Marker für myokardiale Nekrose, wie beispielsweise bei Patienten mit Herzinfarkt. Bei Herzmuskelzellschädigung wird dieses Protein freigesetzt und kann im Serum nachgewiesen werden [138]. Der Grenzwert im Serum liegt bei $\leq 0,014$ ng/ml.

Laut Zimmermann et al. steigt der Troponin T Spiegel nach Herztransplantationen im Serum an und erreicht das Maximum an den postoperativen Tagen fünf bis sieben. Der Spiegel kann auch über einen längeren Zeitraum nach der Operation erhöht bleiben [139].

Ebenso wurde in einigen Studien der Troponin T-Spiegel im Pleuraerguss untersucht. Baysal et al. fanden heraus, dass Patienten mit systolischer Funktionsstörung einen höheren Troponinspiegel in der Pleuraflüssigkeit hatten als Patienten ohne Funktionsstörung [140]. Patienten mit diastolischer

Funktionsstörung hatten ähnlich hohe Troponinspiegel im Pleuraerguss wie Patienten mit Pleuraergüssen ohne Herzinsuffizienz [140].

Troponin T scheint auch in der Perikardflüssigkeit nach akutem Myokardinfarkt erhöht zu sein [141]. In verschiedenen Studien wurde postmortem Troponin T in Serum und Perikardflüssigkeit untersucht [141-143]. Die Autoren fanden heraus, dass Troponin T im Serum 10-fach niedriger vorhanden war als in der Perikardflüssigkeit. Ein möglicher Grund für die hohen Werte in der Perikardflüssigkeit könnte eine direkte Diffusion vom Myokard in das Perikard sein [141-143].

11. Therapiemöglichkeiten

11.1. Pleuraergüsse

Ziel der Therapie ist vor allem die Behandlung der Grunderkrankung und die Linderung der Beschwerden, wie z.B. Atemnot und Schmerzen. Bei entzündlichen Ergüssen sollte eine antibiotische Behandlung nach Antibiogramm erfolgen [144, 145].

Bei großen Ergussvolumina in Kombination mit Atemnot des Patienten ist eine Thorakozentese unter Ultraschallkontrolle und eine Drainage des Pleuraergusses angezeigt. Um Reexpansionsödeme zu vermeiden, sollten allerdings nicht mehr als 1-1,5 l Flüssigkeit abgezogen werden [144]. Wiederholte Thorakozentesen können zu Verklebungen und Kammerungen des Ergusses führen. Auch bei chronischen Ergüssen, Empyemen oder malignen Ergüssen ist eine Thorakozentese sinnvoll [99, 144].

Bei malignen Ergüssen kann eine Pleurodese, das Verkleben der Pleurablätter mittels Talkumsuspension hilfreich sein. Gekammerte Ergüsse können mittels Fibrinolysetherapie durch Streptokinase oder Urokinase behandelt werden [98].

Für die Behandlung des PPS empfiehlt sich die Gabe von nicht steroidalen Antirheumatika (NSAID) und Kortikosteroiden [77]. Auch die orale Gabe von Cholchicin (Metaphaseninhibitor) kann die Rückbildung von Pleuraergüssen begünstigen [146].

11.2. Perikardergüsse

Wenn Perikardflüssigkeit rasch akkumuliert und die Gefahr einer Herzbeuteltamponade besteht, muss die Perikardflüssigkeit durch Perikardiozentese entfernt werden [147]. Große Perikardergüsse oder Herzbeuteltamponaden können eine andauernde Drainage über mehrere Tage mittels Katheter notwendig machen [147]. Eine Perikardiozentese ist zwar häufig das Mittel der Wahl, um Perikardergüsse zu behandeln, kann aber auch das Risiko für ein Wiederauftreten des Perikardergusses erhöhen [148].

Eine weitere Möglichkeit ist eine chirurgische Intervention. Bei der Perikardfensterung wird ein Teil des Perikards entfernt, so dass der Erguss in das Mediastinum oder die Brusthöhle abfließen kann [147].

Bei akuter idiopathischer oder viral Perikarditis kann eine Therapie mit Aspirin oder NSAIDs erfolgen. Bei purulenter Perikarditis ist eine antibiotische Therapie angezeigt [108].

12. Sonographie

12.1. Physikalische und technische Grundlagen der Sonographie

Die Sonographie basiert auf den gleichen physikalischen Grundlagen, welche die Fledermaus zur Orientierung im Raum nutzt: das Senden und Empfangen von Schallwellen. Diese werden von Hindernissen reflektiert und nach einer bestimmten Zeit als Echo von den Ohren der Fledermaus wahrgenommen. Durch Orientierung an diesem Zeitfenster kann sie die Entfernung zum Hindernis abschätzen und so dessen Position im Raum lokalisieren [149, 150].

Der Ultraschall funktioniert nach demselben „Puls-Echo-Prinzip“. Das Untersuchungsgerät sendet Ultraschallimpulse aus und empfängt die reflektierten Echos. Anhand der Zeit zwischen Senden und Empfangen wird die räumliche Lage der Reflektoren bestimmt [149, 151].

Im Ultraschallkopf befinden sich Piezokristalle, welche durch Anlegen einer Wechselspannung in Schwingung versetzt werden und hochfrequente Schallwellen aussenden (piezoelektrischer Effekt). In der Diagnostik wird meist ein Frequenzbereich von 1 bis 50 MHz genutzt, der oberhalb der menschlichen Hörschwelle liegt (> 20.000 Hz). Die Schallwellen breiten sich longitudinal in elastischen Medien wie Flüssigkeiten, Festkörper oder Gasen aus [149-151].

Im Körper wird an jeder Gewebegrenze ein Teil der Schallwellen reflektiert. Das Ausmaß der Reflexion ist abhängig von der akustischen Impedanz (Schallleitfähigkeit) des Gewebes, welche wiederum abhängig ist von der Gewebedichte. Je höher der Impedanzunterschied zwischen zwei Medien, desto größer ist dessen Reflexion. So wird zum Beispiel die auftreffende Welle zwischen Weichteilgewebe und Knochen oder Weichteilgewebe und Luft fast vollständig reflektiert (Totalreflexion) [149-151]. Dahinterliegende Strukturen sind deshalb häufig nicht beurteilbar. Eine Totalreflexion würde auch beim Durchtritt der Schallwellen durch die Haut entstehen, weshalb eine Ankopplung des Schallkopfes durch Ultraschallgel notwendig ist [149-151].

Die vom Gewebe reflektierten Schallwellen werden vom Ultraschallkopf detektiert, der damit gleichzeitig sowohl Sender als auch Empfänger ist. Die auf den Schallkopf auftreffenden Echosignale verformen die Piezokristalle und werden in mechanische Energie umgewandelt. Dadurch entstehen elektrische Signale, die anschließend in Grauwerte umgewandelt und auf einem Monitor angezeigt werden [149-151].

Die Eindringtiefe der Schallwellen und damit die Reichweite der sonographischen Untersuchung in die Tiefe des Gewebes lässt sich anhand der Frequenz steuern. Niedrigfrequente Schallwellen haben eine hohe Eindringtiefe, hochfrequente eine niedrige Eindringtiefe. Mit steigender Frequenz erhöht sich allerdings auch die Absorption der Schallwellen durch das Gewebe: Niedrigfrequente Schallwellen haben eine geringe Ortsauflösung, hochfrequente eine hohe örtliche Auflösung [149-151].

Die vom Ultraschallgerät erzeugten Bilder und Videos können auf verschiedene Art ausgewertet werden [149, 151]:

- **A-Mode (Amplitudenmodus):**

War früher die Standardmethode der Ultraschalluntersuchung. Der A-Mode gibt eine eindimensionale Momentaufnahme wieder und wird heute nur noch selten eingesetzt.

- **M-Mode (Motion-Modus):**

Wird hauptsächlich in der Kardiologie eingesetzt. Das Echo wird wie beim B-Mode in Grauwerte umgewandelt und zusätzlich die zeitlichen Veränderungen erfasst (Abbildung 5). So kann z.B. die Bewegung der Herzkappen dargestellt werden.

- **B-Mode (Brightness-Modus):**

Wird in der heutigen Real-Time Sonographie häufig eingesetzt. Es werden zweidimensionale Schnittbilder erzeugt. Jede Amplitude wird einem Bildpunkt von bestimmter Helligkeit zugeordnet. Der Schallkopf enthält hunderte Piezokristalle, die aus Richtung, Laufzeit der Schallwelle, Intensität des Echos und der Lokalisation der Kristalle ein Schnittbild erstellen. Bei einer starken Reflexion, wie z.B. an Knochen, wird ein heller Punkt erzeugt. Eine schwache Reflexion (z.B. an Flüssigkeiten) erzeugt ein schwaches Echo und somit einen dunklen Punkt (Abbildung 6).

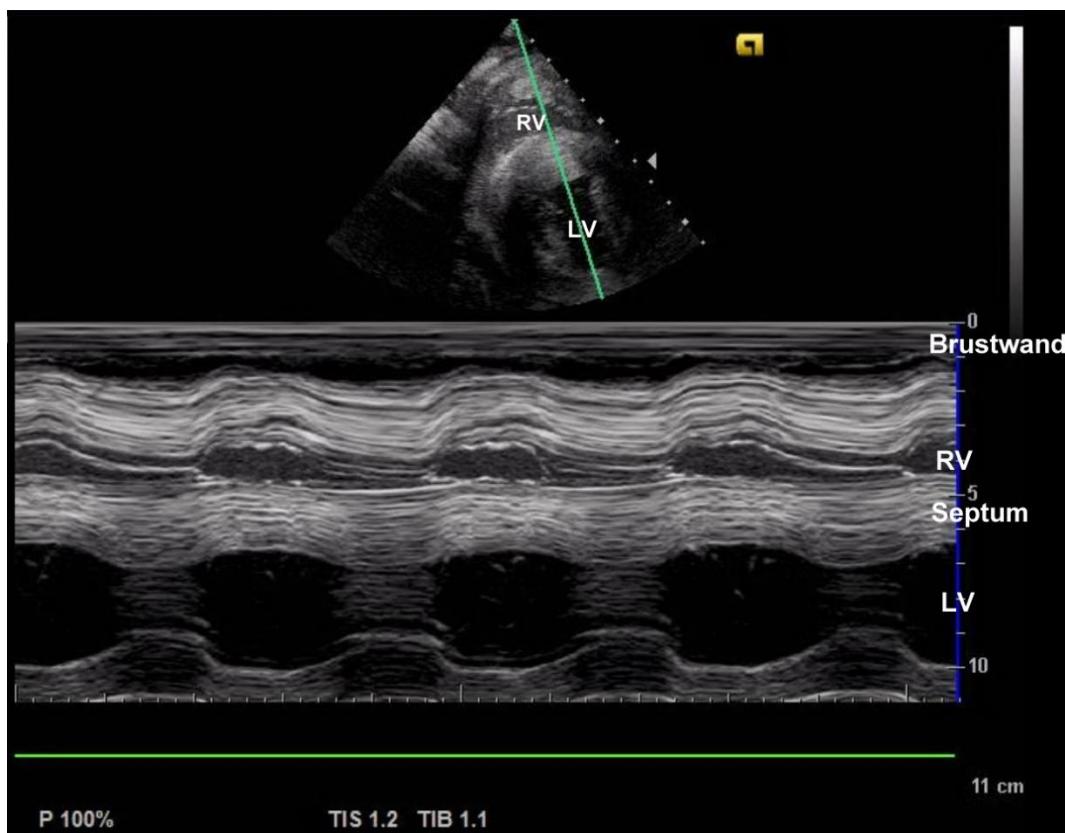


Abbildung 5: Aufnahme des linken Ventrikels im M-Mode in der Kurzachse und auf Höhe der Papillarebene. In der unteren Hälfte des Bildes ist die Bewegung der Kammerwände über die Zeit dargestellt. LV: linker Ventrikel; RV: rechter Ventrikel

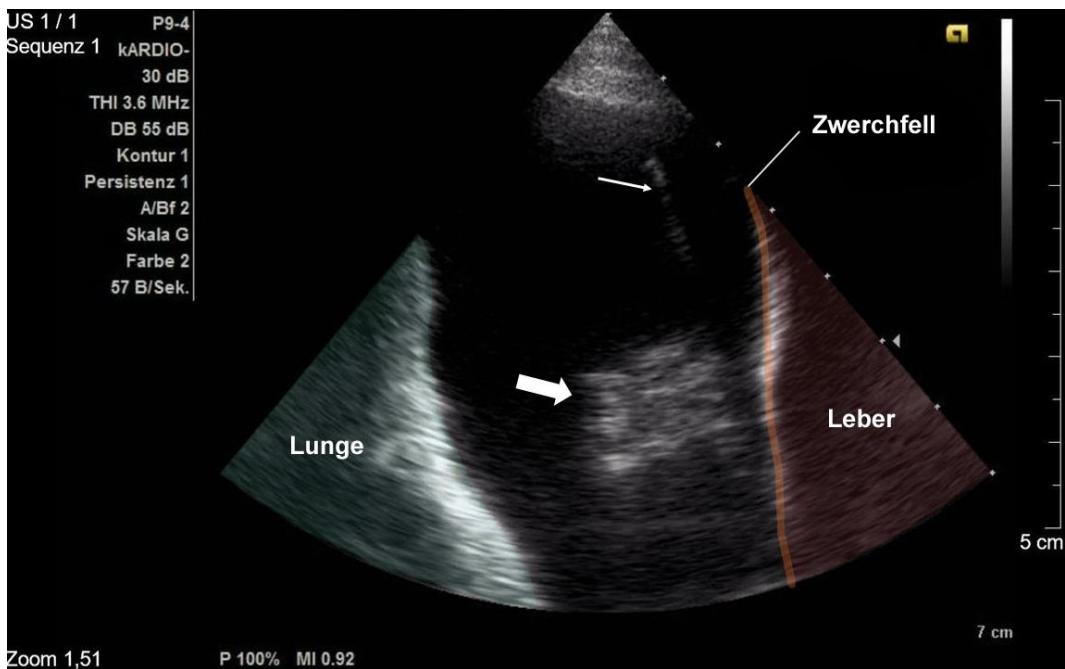


Abbildung 6: Aufnahme des Thorax im B-Mode. Zu sehen sind links (kranial) die Lunge und rechts (kaudal) die Leber mit darüberliegendem Zwerchfell. Dazwischen liegt hypoechoogene Flüssigkeit (Pleuraerguss). Der dicke weiße Pfeil zeigt auf hyperechogenes Material im Erguss (Zellen oder Lungenanteile), der dünne weiße Pfeil zeigt auf den Schallschatten des von der lateralen Thoraxwand (rechts oben im Bild) eingebrachten Führungsdrähte des Thorakozentese-Katheters.

Die Ultraschalldiagnostik ist heute ein häufig eingesetztes Untersuchungsverfahren. Durch Weiterentwicklung der Geräte und der Untersuchungstechniken sowie durch Einführung von Ultraschallkontrastmittel hat sich der Einsatzbereich stark erweitert [152]. Im Gegensatz zu einer radiologischen Untersuchung ist der Ultraschall einfach anwendbar, kostengünstig und strahlungsfrei [153]. Die Geräte sind zudem mobil und deshalb auch direkt am Patientenbett einsetzbar.

12.2. Pleura und Lunge in der Sonographie

Die extrapleuralen Schichten wie Haut, Muskulatur und Fettgewebe können im B-Mode des Ultraschalls einfach identifiziert werden. Die Interkostalräume bilden dabei ein akustisches Fenster, da der knöcherne Thorax nicht vom Schall durchdrungen werden kann. Die Rippen werden als schmales echoreiches Reflexband mit nachfolgender dorsaler Schallauslösung dargestellt [154, 155].

Die Pleura ist mit ca. 0,2-0,4 mm Dicke knapp an der Auflösungsgrenze von modernen Ultraschallgeräten. Durch die Impedanzsprünge an den Grenzflächen der Pleurablätter ist sonographisch trotzdem eine Darstellung möglich [86].

Die Pleura parietalis zeichnet sich als feine echogene Linie im Ultraschall ab. Parallel dazu verläuft der Pleuraspalt, der sich als eine echofreie bis sehr echoarme Bande darstellt. Oberhalb der Pleura parietalis befindet sich die unterschiedlich ausgeprägte extrapleurale Fettlamelle. Sie stellt sich echoarm dar [86].

Die feinere Pleura visceralis erscheint sonographisch als dickere echoreiche Linie, die durch Totalreflexion der Ultraschallwellen an der luftgefüllten Lunge entsteht. Sind die peripheren Lungenanteile durch pathologische Prozesse luftfrei, kann man die eigentliche Pleura visceralis als feine echogene Linie erkennen [86, 154].

12.3. Der Pleuraerguss in der Sonographie

Pleuraergüsse können schnell und einfach im B-Mode mit dem Ultraschall nachgewiesen werden. Im Gegensatz zur Röntgenthoraxaufnahme im Stehen (Sensitivität 71%, Spezifität: 98,5%) hat der Nachweis von Pleuraergüssen mittels Sonographie eine deutlich höhere Sensitivität und Spezifität (Sensitivität 100%, Spezifität 99,7%) [86].

Schon kleinste Flüssigkeitsmengen von unter 5 ml können mittels Sonographie erfasst werden [92]. Bei einer radiologischen Untersuchung muss mindestens 150 ml Flüssigkeit vorhanden sein, damit diese auf dem Röntgenbild erkennbar ist

[156]. Aus diesen Gründen ist die Sonographie inzwischen als diagnostische Maßnahme zur Klärung von Pleuraergüssen fester Bestandteil der Leitlinien pneumologischer Gesellschaften [86].

Sonographisch stellt sich ein Pleuraerguss als echofreie Flüssigkeitsansammlung im Pleuraspalt zwischen Pleura parietalis und Pleura visceralis dar. Er verändert seine Form atemsynchron. Pleuraergüsse können anechogen und homogen sein oder hypoechogen mit flotierenden echogenen Strukturen, wie beispielsweise Fibrinfäden, Blutkoagel oder organisiertes Gewebe. Auch eine Septierung des Ergusses kann im Echo erkennbar sein (Abbildung 7) [86, 154].

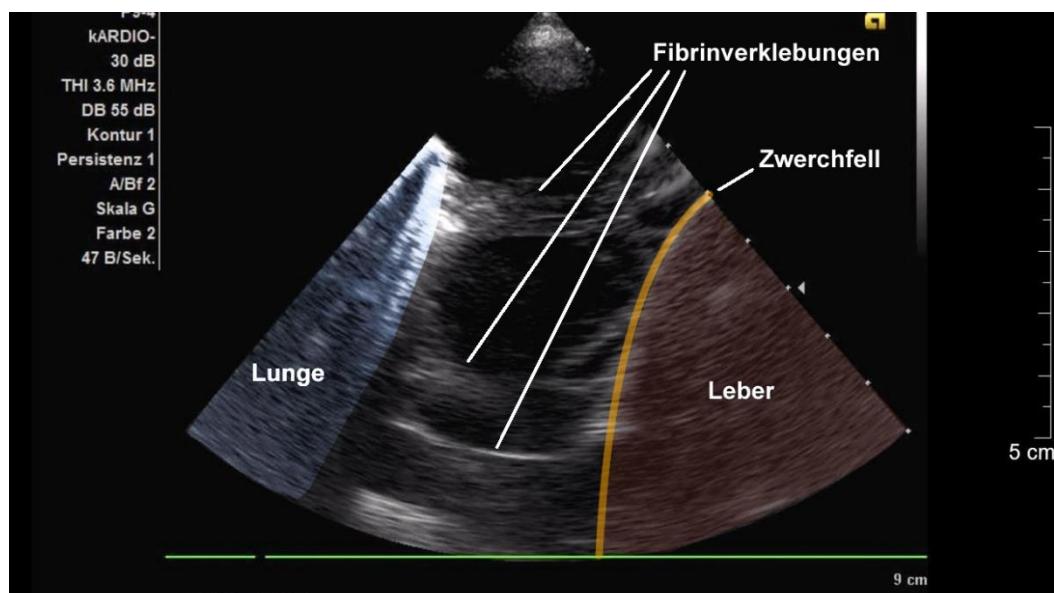


Abbildung 7: Pleuraerguss mit Fibrinverklebungen: Links (kranial) im Bild ist die Lunge dargestellt, rechts (kaudal) die Leber mit dem Zwerchfell darüber. Dazwischen ist ein hypoechogener Pleuraerguss mit hyperechogenen Fibrinverklebungen sichtbar.

Anhand der Echogenität kann man Rückschlüsse auf die Art des Ergusses ziehen [157]. Das Vorhandensein von Echos oder Septen innerhalb der Flüssigkeit kann ein Indiz für einen exsudativen Pleuraerguss oder einen Hämatothorax sein. Dagegen kann man bei einer anechogenen Flüssigkeitsansammlung nur durch weiterführende Untersuchungen zwischen Exsudat und Transsudat unterscheiden [157]. Ein Pleuraerguss muss außerdem von einer intraabdominellen subphrenischen Flüssigkeitsansammlung abgegrenzt werden, indem das Zwerchfell dargestellt und die Flüssigkeit eindeutig zugeordnet wird [86, 154].

13. Sonographische Quantifizierung von Pleuraergüssen

Oft werden vorhandene Pleuraergüsse nur grob in geringfügige, mäßiggradige und ausgedehnte Ergussmengen eingeteilt. Dabei spielt auch der klinische Befund wie Atemnot oder das Ausmaß von sekundären Veränderungen wie das Auftreten von Kompressionsateletasen eine Rolle [158].

Eine genauere Quantifizierung von Ergussvolumina ist aber in vielen klinischen Situationen von Vorteil. Sie kann beispielsweise als Entscheidungshilfe zur Punktions- oder Drainagetherapie herangezogen werden. Bei kleinen Volumina stehen die Risiken von Komplikationen wie einer Blutung oder eines Pneumothorax dem Nutzen der Thorakozentese gegenüber [159]. Beim Menschen bringt eine Ergusspunktion unter 500 ml meistens keine relevante Verbesserung [160]. Außerdem sind genauere Verlaufskontrollen zur Überprüfung der Therapieeffizienz möglich [160].

Die Ausdehnung eines Ergusses ist zudem lageabhängig: Auf Intensivstationen beispielsweise bei liegenden, beatmeten Patienten, ist die sonographische Darstellung schwieriger als am sitzenden Patienten, da dann der Schallkopf zwischen Matratze und Rücken des Patienten positioniert werden muss, um einen Pleuraerguss darzustellen [160].

13.1. Formeln zu Quantifizierung von Pleuraergüssen in der Humanmedizin

Für die quantitative Einschätzung der Flüssigkeitsmenge im Pleuraspalt existieren in der Humanmedizin verschiedenste Formeln, anhand derer das Flüssigkeitsvolumen ermittelt werden kann. Zur Berechnung wird meist die Schichtdicke des Pleuraergusses zwischen Lunge und dorsaler oder dorsolateraler Thoraxwand im Verlauf der hinteren Axillarlinie verwendet [160].

Dabei können verschiedenste Strecken im Pleuraraum ausgemessen werden, wie beispielsweise der Abstand zwischen Lunge und Zwerchfell, das maximale kraniokaudale Ausmaß oder die subpulmonale Ergusshöhe. Im Folgenden ist eine Auswahl an Formeln für die Verwendung am sitzenden Patienten aufgeführt (Tabelle 7):

Autor	Formel	Korrelationskoeffizient
Goecke et al. [161]	$V = 90 \times \text{max. Ergusshöhe}$	$r = 0,68$
Goecke et al. [161]	$V = 70 \times \text{basaler (peripherer) Lungen- Zwerchfellabstand} + \text{maximale Ergusshöhe}$	$r = 0,87$
Usta et al. [162]	$V = 16 \times D$	$r = 0,89$

Tabelle 7: Auswahl an Gleichungen für die sonographische Einschätzung von Pleuraergüssen im Sitzen. V = Volumen, D = maximale Distanz zwischen mittlerer Höhe des Zwerchfells und viszeraler Pleura

Goecke et al. testeten in einer Studie verschiedene Strecken zur Berechnung von Ergussvolumina am sitzenden Patienten [161]. Die besten Korrelationen mit dem vollständig drainierten Ergussvolumen hatten dabei die maximale Ergusshöhe (größte kraniokaudal ausmessbare Höhe entlang der Thoraxwand, $r = 0,68$) und der basale Lungen-Zwerchfellabstand (kürzeste Verbindungsstrecke zwischen Zwerchfell und peripherem Lungenrand, $r = 0,65$), sowie die subpulmonale Ergusshöhe (Abstand von der Lunge zum Zwerchfell; $r = 0,59$). Die Addition dieser beiden Messungen ergab eine deutlich bessere Korrelation ($r = 0,87$) [161].

Usta et al. suchte in einer Studie nach einer vereinfachten Formel für das Management von postoperativen Pleuraergüssen [162]. Dabei wurden 135 Patienten nach herzchirurgischen Eingriffen untersucht und deren Ergüsse mit Hilfe der Formel $V = 16 \times D$ berechnet. Der Schallkopf wurde in der mittleren Scapularlinie nach kranial verschoben. Es wurde die Distanz zwischen der mittleren

Höhe des Zwerchfells und der viszeralen Pleura in Endexspiration gemessen [162]. Diese Messung orientiert sich an der der subpulmonalen Ergusshöhe von Goecke et al. [161]. Der mittlere Vorhersagefehler lag bei $-21,1 \pm 97,78$ ml [162]. Einen graphischen Überblick über die beschriebenen Messungen gibt Abbildung 8.

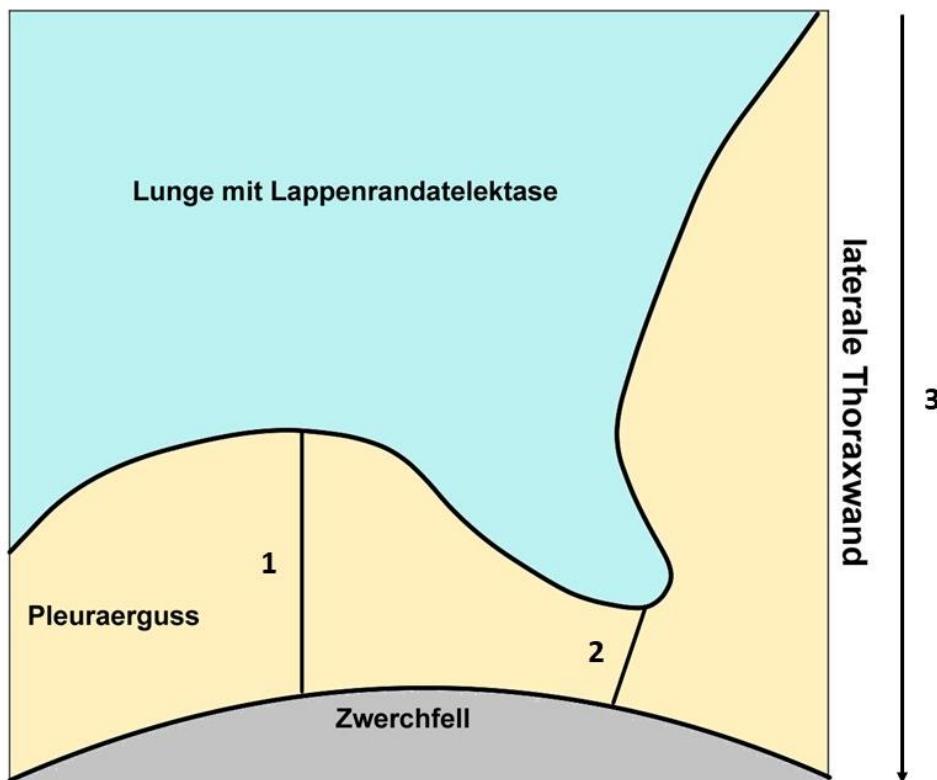


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Messstrecken aus Tabelle 7. Kaudal liegt das Zwerchfell, kranial die Lunge und dazwischen ist ein Pleuraerguss (gelb) dargestellt. Rechts wird der Erguss durch die laterale Thoraxwand begrenzt. Die Zeichnung ist stark vereinfacht dargestellt. Die gemessenen Strecken sind als schwarze Linien eingezeichnet und mit den Nummern 1-3 markiert. 1: Messweise der subpulmonalen Ergusshöhe von Goecke et al. bzw. der Strecke D von Usta et al. [162, 163] 2: Messweise des basalen (peripheren) Lungen-Zwerchfellabstandes. 3: Messweise der maximalen Ergusshöhe entlang der lateralen Thoraxwand; eigene Zeichnung, angelehnt an Hassan et al. [164]

Ibitoye et al. verglichen Gleichungen zur Berechnung von Pleuraergüssen [153]. Die Pleuraergüsse der Patienten ihrer Studie wurden nach den beiden Formeln von Goecke et al. mittels Ultraschall vermessen und berechnet. Ebenso wie bei Hassan et al. lieferte die Formel $V = 70 \times (\text{basaler Lungen-Zwerchfell Abstand} + \text{maximale Ergusshöhe})$ die höchsten Korrelationen zwischen berechneten und abgezogenen Ergüssen ($r = 0,81$). Die zweite Formel von Goecke et al. hatte dieser Studie nach ebenfalls eine hohe Korrelation von $r = 0,75$ [153].

13.2. Quantifizierung von Pleuraergüssen in der Veterinärmedizin

Auch in der Veterinärmedizin wurden Formeln zur Quantifizierung von Pleuraergussvolumina mittels Ultraschall aufgestellt.

Newitt et al. führten eine Studie zur Quantifizierung von pleuraler Flüssigkeit bei Hunden unterschiedlicher Rassen durch [165]. Die Messungen wurden post mortem nach stufenweiser Injektion von Kochsalzlösung bis zu einem Gesamtvolumen von einem Liter durchgeführt. Der Schallkopf wurde ventral am kaudalen Ende der Sternebrae auf Höhe der Herzmitte aufgesetzt. Es wurden lineare Messungen, ausgehend von der Pleuraoberfläche unterhalb des Sternums, jeweils zum ventrolateralen Rand der rechten und linken Lunge durchgeführt. Die Messungen wurden nach jeder Flüssigkeitsinjektion wiederholt und mit der injizierten Flüssigkeit korreliert. Das Ergebnis war eine hohe Korrelation ($r = 0,899$) zwischen den Ultraschallmessungen und dem Flüssigkeitsvolumen bei einzelnen Hunden, aber es konnte keine Formel abgeleitet werden, die für die Volumenberechnung bei allen Hunden gilt. Die Messungen eigneten sich bei den einzelnen Individuen allerdings zum Monitoring des Ergussvolumens [165].

Shimali et al. testete die gleiche Messmethode an Katzen. Auch hier kamen die Autoren zu dem Schluss, dass es keine allgemein gültige Formel für die Berechnung des Ergussvolumens bei Katzen gibt, sondern die Messungen nur zur Beobachtung von Volumenveränderungen bei einzelnen Tieren genutzt werden konnten [166].

III. ZIELSETZUNG

Ziele dieser Arbeit waren:

- Die Erstellung einer Formel zur quantitativen Berechnung der Ergussmenge mittels sonographischer Messungen, so dass das Ausmaß des Ergusses vor möglichen Interventionen besser abgeschätzt werden kann.
- Die Differenzierung der Ergusspunkte zwischen Exsudat und Transsudat anhand laborchemischer Aspekte.
- Die Erhebung von Häufigkeit, zeitlichem Auftreten und Frequenz der Ergüsse nach kardialer Xenotransplantation. In diesem Zusammenhang sollte insbesondere der Einfluss der Ergüsse auf das Langzeitüberleben der Versuchstiere beschrieben, aber auch nach möglichen Ursachen für die Ergüsse gesucht werden.

IV. MATERIAL UND METHODEN

Die in dieser Doktorarbeit beschriebenen Untersuchungen fanden im Rahmen der postoperativen Phase von orthotopen kardialen Xenotransplantationen statt. Dabei wurden Schweineherzen von genetisch modifizierten Schweinen in Paviane transplantiert.

Die verwendeten Medikamente, Geräte und Verbrauchsmaterialien können mit Herstellernamen und Produktionsfirmen den beiden Listen im Anhang entnommen werden (Kapitel XIV.1.1 Seite 145 und Kapitel XIV.1.2 Seite 146).

1. Die orthotope Herztransplantation

Zum besseren Verständnis soll im Folgenden kurz auf den Ablauf der orthotopen Herztransplantation eingegangen werden. Die Transplantation selbst sowie Vor- und Nachbereitung waren jedoch nicht Teil der vorliegenden Arbeit. Eine ausführlichere Darstellung des Eingriffs geben Längin et al. [31].

1.1. Explantation des Spenderherzens

Nach Prämedikation der Schweine wurde die Narkose durch die intravenöse Gabe von Propofol (20 mg/Tier) und Fentanyl (0,05 mg/Tier) vertieft und als total intravenöse Anästhesie durch perfusorgesteuerte Applikation von Propofol (7 mg/kg/h) und intermittierende Bolusgaben von Fentanyl (0,05 mg/Bolus) nach Wirkung aufrechterhalten.

Nach endotrachealer Intubation erfolgte die druckkontrollierte Beatmung; diese wurde an das endexpiratorische CO₂ (Kapnographie) adaptiert. Die Vitalparameter wurden intraoperativ mittels Elektrokardiogramm (EKG), nichtinvasiver bzw. invasiver Blutdruckmessung und peripherer Pulsoxymetrie überwacht.

Anschließend wurde das Operationsfeld steril abgedeckt und eine mediane Sternotomie durchgeführt. Nach systemischer Vollheparinisierung (500 IE/kg Heparin) wurden die Aorta ascendens und die Venae cavae cranialis und caudalis kanülliert. Nach Abklemmen der Aorta ascendens wurde das Herz mit 600 ml oxygenierter Kardioplegielösung perfundiert. Die verwendete 8°C kalte Lösung beinhaltete Albumin, Glucose, Hormone (Insulin, Noradrenalin, Adrenalin, T3 und T4, Cortisol), ein Antibiotikum (Imipenem) und Erythrozyten [167].

Nach Herzstillstand wurde das Herz auf Vorhofebene exzidiert, wobei die Aorta ascendens und der Truncus pulmonalis durchtrennt wurden. Die Aorta ascendens

wurde für die Perfusion kanülliert und die Vena cava cranialis ligiert. Die Vena cava caudalis sowie die Lungenvenen blieben geöffnet, damit die Perfusionslösung entweichen konnte. Danach wurde das Herz in eine portable Herz-Präservationsmaschine (XIVO Perfusion AB, Göteborg, Schweden) verbracht und bis zur Implantation weiter kontinuierlich perfundiert.

1.2. Implantation des Spenderherzens

Nach Prämedikation wurde die Narkose des Empfängerpavians über einen zwei Tage vor Transplantation operativ angelegten zentralvenösen Katheter (ZVK) durch die intravenöse Gabe von Propofol (1,5-2,5 mg/kg) und Fentanyl (0,05 mg) eingeleitet und im Weiteren wie beim Schwein durch perfusorgesteuerte Applikation von Propofol (7 mg/kg/h) bzw. Sevofluran (1-2 Vol% endexpiratorisch) und intermittierende Bolusgaben Fentanyl (0,05 mg/Bolus) nach Wirkung aufrechterhalten.

Nach endotrachealer Intubation erfolgte die druckkontrollierte Beatmung, die entsprechend dem endexpiratorischen CO₂-Gehalt adaptiert wurde. Die Vitalparameter wurden intraoperativ mittels EKG, invasiver Blutdruckmessung, peripherer Pulsoxymetrie und rektaler Temperatursonde überwacht. Zusätzlich wurde ein Blasendauerkatheter zur Überwachung der Volumenausfuhr angelegt. Anschließend wurde das Operationsfeld steril abgedeckt und eine mediane Sternotomie durchgeführt. Nach systemischer Vollheparinisierung (500 IE/kg Heparin) wurde das Tier an die Herz-Lungen-Maschine angeschlossen und das Empfängertier auf eine Körpertemperatur von 34°C heruntergekühlt, die Aorta ascendens geklemmt und das Eigenherz entnommen. Dabei verblieben sowohl die Vena cava cranialis und Vena cava caudalis, Teile des rechten Vorhofs, der Aorta ascendens und des Truncus pulmonalis sowie die Einmündungen der Pulmonalvenen im Empfänger erhalten.

Die Implantation des Spenderherzens wurde nach der biatrialen Technik von Lower und Shumway durchgeführt [168]. Zuerst erfolgten die linken und rechten Vorhof-Anastomosen, danach die des Truncus pulmonalis und zuletzt die der Aorta ascendens. Während der Implantation wurde das Herz intermittierend mit der 8°C kalten Perfusionslösung durchströmt.

Nach Erwärmung und Entwöhnung von der Herz-Lungen-Maschine wurde der Thorax mit sternalen Drahtcerclagen verschlossen und Muskel und Hautschichten vernäht. Zur postoperativen Überwachung von EKG, Blutdruck und Temperatur

implantierte man ein Telemetrie-Überwachungssystem (Data Science International Inc., Harvard Bioscience, St. Paul MN, USA).

Bei unkompliziertem perioperativem Verlauf wurde die Narkose nach einstündiger Überwachung reduziert und die einliegenden arteriellen Katheter und Drainagen entfernt. Danach wurde eine individuell angepasste „Pavianjacke“ (Lomir Biomedical Inc., Quebec, Canada) angezogen, über die der ZVK von einem Tethering-System (Lomir Biomedical Inc., Quebec, Canada) geschützt, mit Perfusionsleitungen verbunden wurde. So war jederzeit sichergestellt, dass der Pavian weder ZVK noch Perfusionsleitungen erreichen konnte. Das Tethering-System wurde mit Hilfe eines frei drehbaren „Swivel“ (Lomir Biomedical Inc., Quebec, Canada) am Käfigdach befestigt. Über dieses „Swivel-Tethering-System“ war eine kontinuierliche und sichere postoperative Medikamentengabe und Entnahme von Blutproben möglich, ohne das Tier sedieren zu müssen.

Der Pavian wurde dann im Rollkäfig auf der Intensivstation untergebracht und die Aufwachphase kontrolliert. Die Extubation erfolgte selbstständig durch das Tier.

1.3. Postoperative Überwachung und Versorgung

Der Pavian wurde in den ersten 36 Stunden nach der Transplantation engmaschig überwacht und kontrolliert. Über fünf postoperative Tage wurde eine bedarfsadaptierte analgetische Therapie mit Fentanyl und Ketamin, sowie Metamizol als kontinuierliche Infusion durchgeführt.

Anhand von „Score Sheets“ wurde der Gesundheitszustand des Pavians täglich erfasst und dokumentiert. Beurteilt wurden dabei das Allgemeinbefinden und der Habitus, Atemtätigkeit und -frequenz, Miktion und Defäkation, Flüssigkeits- und Nahrungsaufnahme, neurologischer Status und Schmerzanzeichen sowie Herzenzyme und Pleuraergussmenge.

Laborparameter und Blutgasanalysen wurden in regelmäßigen Abständen zur Überwachung der Organfunktionen erhoben.

1.4. Versuchsende

Die Versuche wurden nach Erreichen der im Versuchsplan festgelegten 90-Tage-Überlebensfrist, beziehungsweise bei Erreichen von absoluten Abbruchkriterien mit einer Überdosierung von Narkose- und Schmerzmittel beendet. In zwei Fällen erlaubte die Regierung von Oberbayern, die Beobachtungszeit über 90 Tage hinweg zu verlängern.

2. Immunsuppression und supportive Behandlung

Die Empfänger erhielten als Induktionstherapie präoperativ antiCD20 Antikörper (19 mg/kg) zur B-Zell Depletion und Anti-Thymozyten-Globulin (5 mg/kg). Die Kostimulationsblockade bestand aus der Gabe des chimärischen (Maus/Rhesus) anti-CD40 Antikörpers 2C10R4 (anti-CD40 AK) bzw. eines PASylierten anti-CD40L Antikörperfragments (anti-CD40L PAS Fab) [169]. Die Erhaltungstherapie umfasste Mycophenolatmofetil (MMF, 40 mg/kg/d), anti-CD40 AK (50 mg/kg) bzw. anti-CD40L PAS Fab (20 mg/kg) und Methylprednisolon (Anfangsdosis: 10 mg/kg/Tag).

Zusätzlich wurden täglich Aspirin (2 mg/kg/d) und Heparin (oberer Zielwert: 2 x ACT-Normwert) intravenös appliziert. Um Entzündungsreaktionen im Rahmen der Xenotransplantation entgegenzuwirken, verabreichte man einen IL-6 Rezeptor Antagonisten (8 mg/kg), TNF- α Inhibitor (0,7 mg/kg 1x/Woche) und IL1 Rezeptor Antagonist (1,3 mg/kg 1x/d). Zur Hemmung des postoperativen Herzwachstums wurde zusätzlich mit dem mTOR-Inhibitor Temsirolimus (Plasma-Zielspiegel Rapamycin: 4-8 ng/ml,) und antihypertensiv mit Beta Blockern und ACE-Hemmern (Dosis angepasst an die Wirkung) behandelt (außer Pavian 16048, 17139, 17140). Die Zielwerte waren ein arterieller Mitteldruck von 85 mmHg und eine Herzfrequenz von 100 Schläge/Minute.

Infektionen wurden kalkuliert bzw. bei Erregernachweis nach Resistogramm antibakteriell behandelt.

3. Spender- und Empfängertiere

In dieser Doktorarbeit wurden insgesamt 15 männliche Paviane mit Pleuraergüssen untersucht (n = 15).

Eine Übersicht über die einzelnen Tiere findet sich in Tabelle 8. Das mittlere Gewicht der Paviane betrug 20 ± 5 kg. Das Ziel der orthotopen Herztransplantationsversuche war eine Überlebensdauer der genetisch modifizierten Schweineherzen von mindestens 90 Tagen im Empfänger. Zwei der Tiere (17491, 17493) wurden aufgrund guter klinischer Verfassung, nach Genehmigung durch die Regierung von Oberbayern über das 90-Tages Ziel hinaus verlängert. Die Dauer der Versuche reichte von 11 bis 195 Tagen.

Die Spendertiere waren dreifach genetisch modifizierte männliche und weibliche Schweine der deutschen Landrasse. Die Tiere waren bei Operation im Durchschnitt 10 ± 1 Wochen alt und wogen im Mittel 18 ± 5 kg. Bei den genetischen Modifikationen handelte es sich um einen Knockout von GGT1, sowie die Expression von hCD46 und hTM.

Bei den Pavianen 17494 und 17492 wurde nach Euthanasie eine Infektion mit PCMV festgestellt, woraufhin retrospektiv Organproben der anderen Tiere analysiert wurden. Bei weiteren vier Spendern und den dazugehörigen Empfängern konnte das Virus ebenso nachgewiesen werden. Im weiteren Verlauf wurde heparinisiertes Vollblut der Empfängertiere vor Transplantation mindestens zweimal mittels PCR auf PCMV untersucht und positive Tiere von der Transplantation ausgeschlossen. Die Ferkel wurden zudem früh abgesetzt, um eine oronasale Infektion durch das Muttertier zu vermeiden. Tiere aus früheren Versuchen (n = 3) wurden noch nicht mit Antihypertensiva und mTOR-Inhibitoren gegen überschießendes Graftwachstum behandelt. Eine Senkung des Blutdrucks und die Gabe von Temsirolimus hatten einen großen Einfluss auf die Entwicklung einer kardialen Hypertrophie [31].

Tabelle 9 gibt eine Übersicht, welche Untersuchungen bei den einzelnen Pavianen jeweils durchgeführt wurden. Mit Ultraschall bestimmte man das Ergussvolumen quantitativ. Für die Einteilung in Exsudat und Transsudat wurden die Protein- und LDH-Werte im Serum und Erguss untersucht. Zudem wurde bei einigen Tieren Troponin T, NT-proBNP und IL-6 im Serum und Pleuraerguss analysiert.

Tier-ID	Rasse	KGW (kg)	Versuchs-dauer(Tage)	anti - CD40 AK	anti-CD40L PAS Fab	PCMV	Tensirolimus Antihypertensiva	Grund für Versuchsende
16048	P.anubis	17	18		x	x		Herzhypertrophie, diastolische Funktionsstörung
16701	P.hamadryas	20	90	x			x	Studienziel erreicht
16861	P.hamadryas	14	18		x		x	Transplantatversagen (humorale Abstoßung)
17139	P.anubis	13,9	40		x	x		Herzhypertrophie, diastolische Funktionsstörung, Thrombose
17140	P.anubis	10,5	27	x		x		Herzhypertrophie, diastolische Funktionsstörung
17186	P. anubis	21	90	x			x	Studienziel erreicht
17187	P.anubis	22	51		x		x	Verschluss des Ductus thoracicus, Thrombose
17188	P.anubis	19	11		x	x	x	Iatogene Komplikation
17482	P.anubis	20	90	x			x	Studienziel erreicht
17491	P.anubis	25	182	x			x	Studienziel erreicht (geringe Herzhypertrophie)
17492	P.anubis	26	27	x		x	x	Multorganversagen
17493	P.anubis	23	195	x			x	Studienziel erreicht (geringe Herzhypertrophie)
17494	P.anubis	16	15	x		x	x	Multorganversagen
17769	P.anubis	28	51		x		x	Nierenversagen, zelluläre Abstoßung
17781	P.anubis	29	28		x		x	Transplantatversagen (zelluläre Abstoßung)

Tabelle 8: Übersicht über die untersuchten Paviane. Tier-ID = Identifikationsnummer des Tieres; KGW = Körpergewicht; P.anubis = Anubispavian, P.hamadryas = Mantelpavian; AK = Antikörper; PAS = PASyliert; Fab = Antikörperfragment ; PCMV = porzines Cytomegalievirus;

Tier-ID	Sonographische Quantifizierung der Pleuraergüsse	Einteilung der Pleuraergüsse in Transsudat/Exsudat	Auswertung spezifischer Laborparameter	Vergleich der Ergussvolumina
16048				x
16701	x			x
16861	x	x	x	x
17139				x
17140				x
17186		x	x	x
17187		x	x	x
17188				x
17482	x	x	x	x
17491	x	x	x	x
17492		x	x	x
17493	x	x	x	x
17494	x	x	x	x
17769	x	x	x	x
17781	x	x	x	x

Tabelle 9: Übersicht über die durchgeführten Untersuchungen bei den einzelnen Pavianen. Spezifische Laborparameter: IL-6, Troponin T und NT-proBNP; Tier-ID = Identifikationsnummer des Tieres

4. Postoperative transthorakale Sonographie

4.1. Durchführung der postoperativen transthorakalen Sonographie

Postoperativ untersuchte man in regelmäßigen Abständen die Funktion des transplantierten Herzens mittels transthorakaler Echokardiographie. Dabei wurden, falls vorhanden, Pleura -oder Perikardergüsse dargestellt und bei Bedarf mittels Thorakozentese entlastet. Die Ultraschalluntersuchung fand mindestens einmal in der Woche statt, bei klinischen Auffälligkeiten (wie z.B. Veränderung der Atmung oder verringelter Aktivität) öfter.

Für die Dauer der Untersuchung wurde das nüchterne Tier mit Ketamin (6-8 mg/kg) und Midazolam (0,5 mg/kg) analgosediert. Nach Überprüfung der Sedationstiefe wurde das Tier auf den Untersuchungstisch verbracht und von einer Person in Sitzposition gehalten.

Die sonographischen Untersuchungen erfolgten mit den Ultraschallgeräten HP Sonos 7500 und Siemens Acuson X300 Premium Edition und einem pädiatrischen Sektorschallkopf (P9-4) mit einer Frequenz von 4,0-9,0 MHz. Die Ergebnisse wurden in kurzen Videosequenzen und Standbildern zur späteren Auswertung gespeichert.

Zunächst wurden die rechten und linken Thoraxseiten im B-Mode auf Pleuraergüsse untersucht. Dabei wurde der Schallkopf im Bereich der hinteren Axillarlinie interkostal und orthogonal angesetzt und der Bereich sagittal und transversal durchmustert. Im Anschluss wurde die transthorakale Echokardiographie des Herzens durchgeführt. Bei vorhandenen Pleuraergüssen maß man dessen Ausdehnung und traf dann die Entscheidung für oder gegen eine Thorakozentese.

4.1.1. Durchführung der Thorakozentese

Die Thorakozentese erfolgte in der hinteren Axillarlinie auf Höhe der größten Ergussausdehnung.

Dazu wurde am analgosedierten, aufrecht sitzenden Tier die Punktionsstelle rasiert, mit Jodlösung desinfiziert und steril abgedeckt. Die Punktionsstelle erfolgte in senkrechter Stichrichtung mittels einer 18 G Kanüle mit aufgesetzter, mit NaCl 0.9% -gefüllter 5 ml Spritze unter ständiger Aspiration am Oberrand der im Untersuchungsbereich liegenden unteren Rippe. Nach Aspiration von Pleuraerguss

wurde ein 0,81 mm dicker Führungsdraht in den Pleuraspalt vorgeschoben und die Kanüle entfernt. Nach erfolgter Lagekontrolle per Ultraschall wurde ein 1-lumiger ZVK (14 Ga, 16 cm) nach Seldinger Technik über den Führungsdraht vorgeschoben.

Zum Abziehen des Pleuraergusses wurde eine Heidelberger-Verlängerung mittels 3-Wege-Hahn an den Katheter angeschlossen und die Flüssigkeit in eine 50ml Perfusorspritze gezogen, quantifiziert und laborchemisch und mikrobiologisch untersucht (Labor für klinische Chemie und Labor für Mikrobiologie des Klinikums Großhadern).

4.1.2. Dokumentation der Pleuraergüsse

Neben Aussehen (Farbe und Transparenz) wurde das gemessene Volumen des abgezogenen Ergusses (Ergusseinzelvolumen) am jeweiligen postoperativen Tag (POD) x im Versuchsprotokoll des individuellen Tieres dokumentiert (Formel (1)).

$$(1) \text{Ergusseinzelvolumen (EEV)}_{\text{POD}x} = \text{abgezogener Pleuraerguss [ml]}$$

Die einzelnen Ergussvolumina wurden für jedes Tier am Ende des Versuches zu einem Ergussgesamtvolumen aufgerechnet (Formel (2)).

$$(2) \text{Ergussgesamtvolumen (EGV)} = \text{EEV}_{\text{POD}1} + \text{EEV}_{\text{POD}2} + \dots + \text{EEV}_{\text{POD}x} \text{ [ml]}$$

Zur besseren Vergleichbarkeit zwischen den Versuchstieren wurden die Gesamtvolumina dann durch die Anzahl der Versuchsstage geteilt, um das durchschnittliche Ergusstagesvolumen zu erhalten (Formel (3)).

$$(3) \text{Ergusstagesvolumen (ETV)} = \text{EGV [ml]} \div \text{Versuchsdauer [d]}$$

Die Körperoberfläche eines männlichen Pavians kann mit einer Formel (4) von seinem KGW abgeleitet werden [170]:

$$(4) \text{Körperoberfläche (KOF)} = 0,083 \times \text{KGW}^{0,639} \text{ [m}^2\text{]}$$

4.2. Sonographische Quantifizierung der Pleuraergüsse

Es wurden 53 Ultraschallaufnahmen von Pleuraergüssen von insgesamt acht Tieren ausgewertet (siehe Tabelle 9).

Das Tier 17492 hatte sowohl Pleuraergüsse als auch Perikardergüsse und wurde deshalb nicht in die sonographischen Messungen einbezogen. Sonographische Aufnahmen von schlechter Bildqualität und gekammerte Befunde wurden von den Auswertungen ausgeschlossen ($n = 6$).

Angelehnt an die beim Menschen beschriebenen Verfahren (siehe Kapitel II.13.1) wurde die maximale Ergusshöhe zwischen Lunge und Zwerchfell (H_{\max}) gemessen, um eine Abschätzung der Ergussvolumina zu ermöglichen. Dabei wurde die Mitte des Zwerchfells aufgesucht und dort die maximale Ergussausdehnung bis zum basalen Lungenrand gemessen (Abbildung 9) [161, 164].

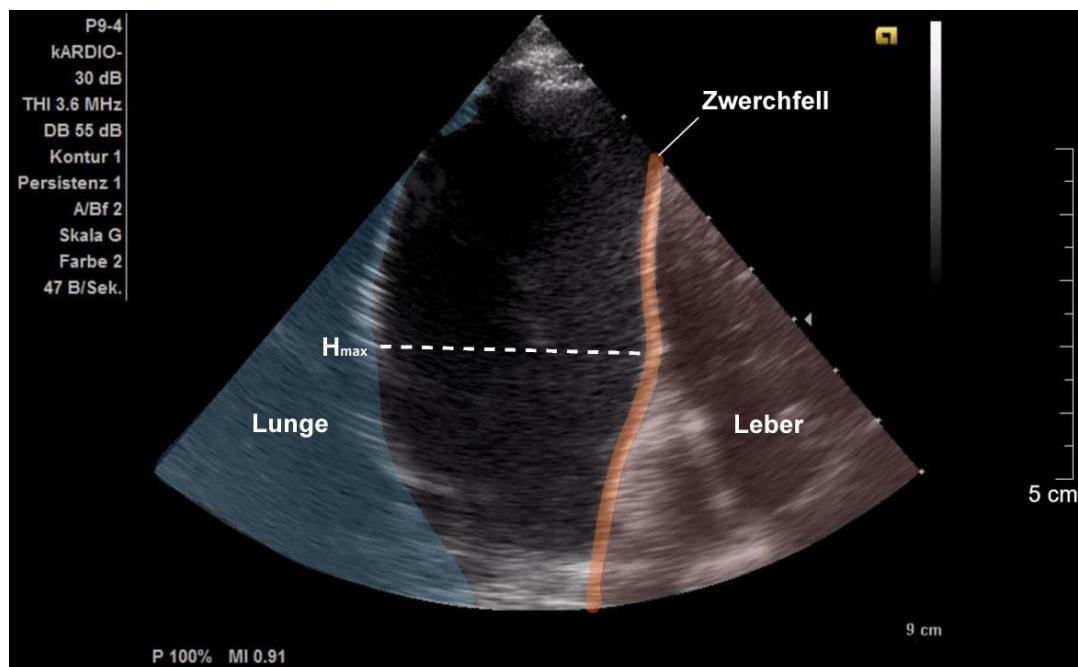


Abbildung 9: Messung der maximalen Ergusshöhe (H_{\max}). Es wurde der maximale Abstand zwischen der Lunge links (kranial) und der mittleren Höhe des Zwerchfells rechts (kaudal) gemessen. Dargestellt ist die Strecke als gestrichelte weiße Linie.

Bedingt durch die operative Technik stehen nach Herztransplantation beide Pleurahälften über das Perikard miteinander in Kontakt. Deshalb wurden Aufnahmen beider Seiten vermessen und addiert. Falls über die Thorakozentese das Ergussvolumen nicht vollständig entleert werden konnte, wurde der verbliebene Erguss mit derselben Methode vermessen und von der vor Punktions ermittelten Strecke abgezogen (Abbildung 10). Jede Messung wurde dreimal wiederholt und daraus das arithmetische Mittel gebildet.

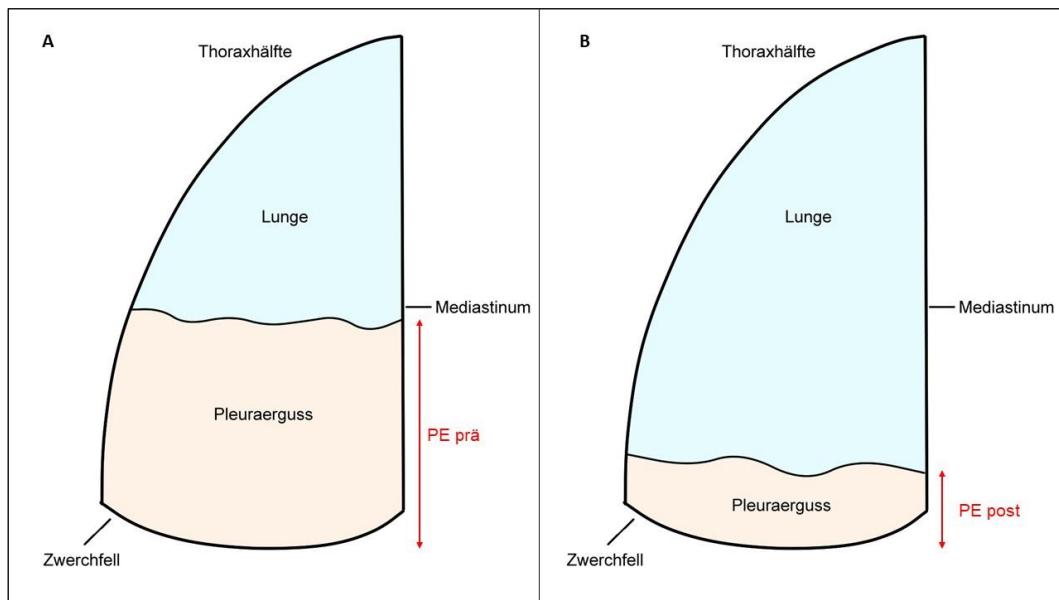


Abbildung 10: Messmethode bei unvollständiger Drainage mit Restvolumen. Stark vereinfachte Darstellung einer Thoraxhälfte (eigene Zeichnung). Bild A zeigt einen Pleuraerguss (PE) vor Thorakozentese (= PE prä). Bild B zeigt den restlichen Pleuraerguss nach Thorakozentese (= PE post). Das Ausmaß des Pleuraergusses wurde aus der Differenz von PE post und PE prä errechnet.

5. Unterscheidung zwischen Transsudat und Exsudat

Zur Unterscheidung von Transsudat und Exsudat wurden die verkürzten Light Kriterien der Humanmedizin angewandt. Demnach wurden der LDH-Quotient und der Proteinquotient untersucht und das Punktat als Exsudat klassifiziert, wenn mindestens eines der beiden Kriterien erfüllt war:

- LDH (Pleuraflüssigkeit) / LDH (Serum) > 0,6
- Protein (Pleuraflüssigkeit) / Protein (Serum) > 0,5.

Wurden beide Kriterien nicht erfüllt, wurde das Punktat als Transsudat klassifiziert. Die Proben wurden im Labor für klinische Chemie Großhadern aufbereitet und untersucht. Es konnten Proben von zehn Pavianen ausgewertet werden (siehe Tabelle 9).

Bei Tier 17492 wurden für die Einteilung in Exsudat und Transsudat nur die Pleuraergüsse, nicht aber die Perikardergüsse untersucht. Diese wurden gesondert untersucht. Tier 16701 hatte nur eine Ergusspunktion, dessen Punktat nicht laborchemisch aufbereitet wurde. Bei den Tieren 16048, 16701, 17140, 17139 und 17188 wurden keine Proben von der Pleuraflüssigkeit entnommen, weshalb bei diesen Tieren keine Unterscheidung in Exsudat und Transsudat durchgeführt werden konnte

5.1. Chylothorax als Sonderform eines Exsudates

Um das Vorliegen eines Chylothorax auszuschließen, wurden zusätzlich zu den oben genannten Parametern (LDH-Quotient und Proteinquotient) auch der Triglyceridwert und der Cholesterinwert im Pleuraerguss und im Serum bestimmt. Ein Chylothorax liegt vor bei:

- Triglyceride im Pleuraerguss > 110 mg/dl
- Cholesterin im Pleuraerguss < 200 mg/dl

6. Untersuchung weiterer Parameter im Erguss

Zusätzlich zu den Parametern für die Einteilung in Exsudat und Transsudat wurden jeweils die Spiegel von NT-proBNP, Troponin T und IL-6 sowohl im Serum als auch im Erguss bestimmt. Die Bestimmung dieser Parameter erfolgte über Serumblut mittels Chemilumineszenz-Immunoassay im Labor für klinische Chemie Großhadern. Die folgenden Serumgrenzwerte beziehen sich auf den Menschen: IL-6 < 5,9 pg/ml, NT-proBNP < 125 pg/ml und Troponin T < 0,014ng/ml. Ein NT-proBNP von < 125 pg/ml gilt als beweisend für den Ausschluss einer akuten Herzinsuffizienz [129]. Die Untersuchung von NT-proBNP in der Pleuraflüssigkeit wird beim Menschen bislang nicht standardmäßig durchgeführt, weshalb keine Grenzwerte validiert sind. Studien zufolge weisen Werte von ≥ 1500 pg/ml in Serum oder Erguss, auf kardiale Ursachen hin [109, 127, 131].

7. Statistische Auswertung

Die Sammlung und Verarbeitung der erhobenen Daten erfolgten mit Microsoft Excel. Mit GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc.) wurden die statistischen Auswertungen durchgeführt und graphisch dargestellt. Eine statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $p < 0,05$ angenommen. Die Daten wurden im Vorfeld auf Normalverteilung untersucht.

Alle Mittelwerte und Standardabweichungen wurden mit Hilfe von GraphPad Prism berechnet. Die graphische Darstellung der Daten erfolgte zumeist als „scatter dot plot“ oder Kurvendiagramm.

Eine Korrelationsanalyse untersuchte einen Zusammenhang zwischen den Ergussvolumina und der KOF der Paviane. Ebenso wurde die im Ultraschall gemessene Strecke H_{max} mit den Ergusseinzelvolumina korreliert. Für die Stärke der Korrelation wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson angegeben:

$r = 0-0,2$ (sehr geringe Korrelation), $r = 0,2-0,4$ (geringe Korrelation), $r = 0,4-0,6$ (mittlere Korrelation), $r = 0,6-0,8$ (hohe Korrelation) und $r = 0,8-1,0$ (sehr hohe Korrelation). Zusätzlich wurden die Konfidenzintervalle (KI) angegeben. Die Gleichung zur Abschätzung der Pleuraergüsse mittels Sonographie wurde mit einer linearen Regressionsanalyse ermittelt.

Mittels Two-way-ANOVA wurden Unterschiede zwischen dem Serum und den Pleurapunktaten bei den Laborwerten NT-proBNP, Troponin T und IL-6 auf Signifikanz untersucht. Ein Kruskal-Wallis-Test für nichtparametrische Daten wurde bei Tier 17492 zum Vergleich der Laborwerte von Pleura- und Perikarderguss und Serum herangezogen.

Mit einer multiplen linearen Regressionsanalyse wurde der Einfluss von verschiedenen Variablen auf die Ergusstagesvolumina als abhängige Variable getestet.

V. ERGEBNISSE

1. Volumenberechnung von Pleuraergüssen

1.1. Zusammenhang zwischen Körperoberfläche (KOF) und Gewicht und den Ergusseinzelvolumina (EEV)

Mit Hilfe einer Korrelationsanalyse wurde das Gewicht und die KOF der acht Paviane zu den EEV ($n = 53$) ins Verhältnis gesetzt. Die Korrelation der KOF mit den EEV lag bei 0,4604 (KI = 0,2172-0,6499, $p = 0,0005$), die Korrelation der EEV mit dem Gewicht bei 0,4776 (KI = 0,2381-0,6624, $p = 0,0003$). Beide Korrelationen wiesen somit eine Signifikanz mittlerer Stärke auf. Eine Indizierung der Ergussvolumina mit der KOF oder dem Gewicht wurde im weiteren Verlauf nicht durchgeführt.

1.2. Zusammenhang zwischen den Ergusseinzelvolumina (EEV) und den sonographischen Messungen

Mit einer weiteren Korrelationsanalyse wurde getestet, ob ein Zusammenhang zwischen der im Ultraschall gemessenen Strecke H_{max} und den EEV ($n = 53$) besteht. Mit einem Pearson's Korrelationskoeffizienten von $r = 0,8809$ (KI = 0,8014-0,9298) und einem p -Wert von $< 0,0001$ war der Zusammenhang statistisch hoch signifikant. Die Messung von H_{max} wurde in folgender linearer Regressionsanalyse verwendet.

1.3. Erstellung einer Formel zur Abschätzung der Ergusseinzelvolumina (EEV) mittels Sonographie

Mittels linearer Regression wurde eine Formel zur Abschätzung der EEV aus den sonographischen Messungen erstellt (Abbildung 11).

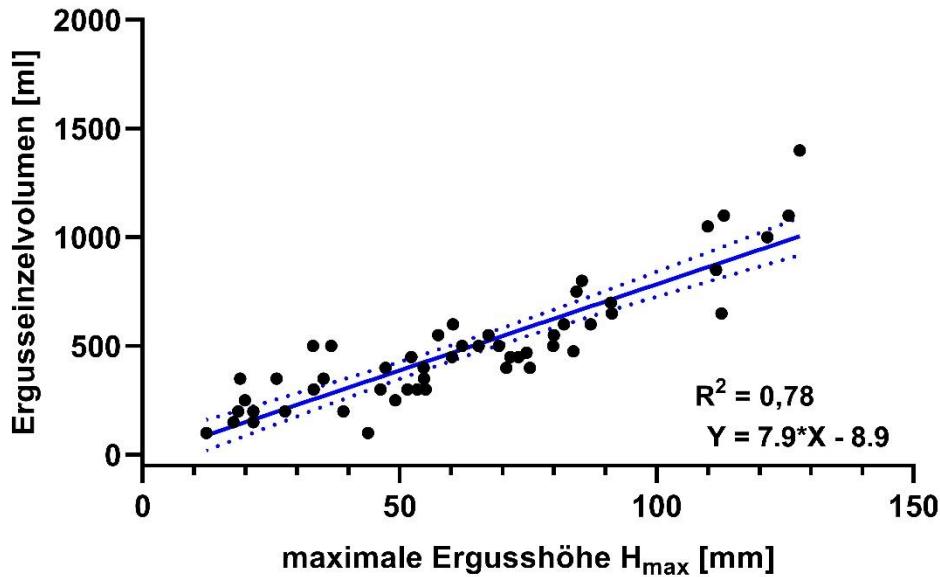


Abbildung 11: Lineare Regressionsanalyse der maximalen Ergusshöhe H_{max} und dem Ergusseinzelvolumen. Die Regressionsgerade ist in blau mit den 95% Konfidenzintervallen der Geraden (gepunktete blaue Linien) und zugehöriger Geradengleichung dargestellt. p < 0,0001

Der Regressionskoeffizient b der Regressionsgeraden betrug 7,9 (KI 6,7-9,1), der y-Achsenabschnitt a betrug -8,9. Der p-Wert lag bei < 0,0001, das Bestimmtheitsmaß R² betrug 0,78. Die lineare Regression war statistisch signifikant. Aus der Analyse ergab sich folgende Regressionsgerade für die sonographische Berechnung der EEV:

$$\text{EEV [ml]} = 7,9 \times \text{H}_{\text{max}} [\text{mm}] - 8,9$$

2. Qualitative Untersuchung der Pleuraergüsse

Im Folgenden wurden die Pleurapunkte nach ihrer laborchemischen Zusammensetzung untersucht.

2.1. Einteilung der Pleuraergüsse

2.1.1. Laktatdehydrogenase (LDH) und Protein in Serum und Pleuraerguss

Für die Einteilung in Transsudat und Exsudat mit Hilfe der verkürzten Light Kriterien, wurden die Laborparameter LDH und Protein im Serum und Erguss der Paviane (n = 10) bestimmt. Im Folgenden sind diese Werte jeweils tabellarisch (Tabelle 10 und Tabelle 11) und graphisch (Abbildung 12 und Abbildung 13) dargestellt.

Tier ID	LDH im Pleuraerguss (U/L)	n	LDH im Serum (U/L)	n
16861	1295 \pm 494	3	1288 \pm 635	3
17186	3853 \pm 4758	4	1155 \pm 843	4
17187	300 \pm 104	15	235 \pm 104	15
17482	747	1	489	1
17491	434 \pm 137	24	650 \pm 118	21
17492	5468 \pm 2657	5	14588 \pm 4587	4
17493	434 \pm 103	6	774 \pm 339	6
17494	2788 \pm 1588	5	4394 \pm 4834	5
17769	465 \pm 91	6	624 \pm 107	7
17781	869 \pm 121	5	470 \pm 87	5

Tabelle 10: Darstellung der Mittelwerte mit Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n) von LDH in Pleuraerguss und Serum ID = Identifikationsnummer

Pavian 17492 hatte die höchsten LDH-Werte im Serum und Erguss (14588 ± 4587 U/L und 5468 ± 2657 U/L), Pavian 17187 die niedrigsten (235 ± 104 U/L bzw. 300 ± 104 U/L).

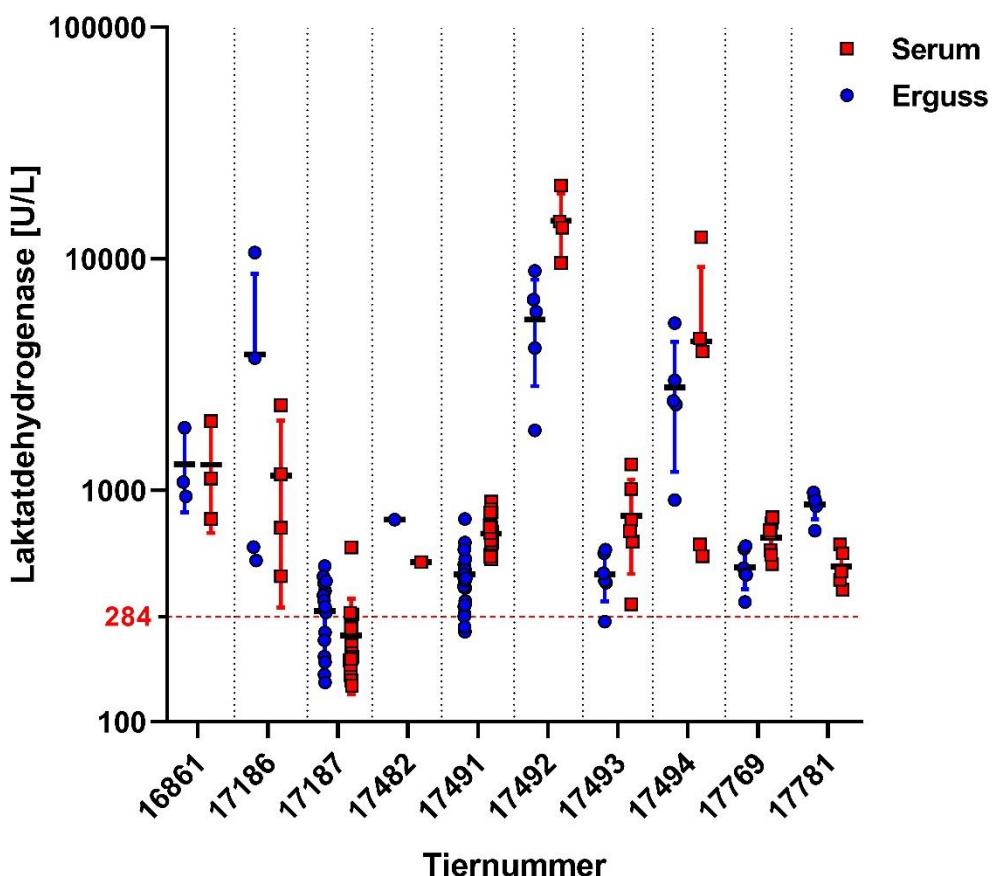


Abbildung 12: LDH im Pleuraerguss und Serum. Die Daten sind als „scatter dot plot“ mit Mittelwert und Standardabweichung abgebildet. Es wurde eine logarithmische Skalierung der y-Achse gewählt. Dargestellt sind die LDH-Konzentrationen im Pleuraerguss (blaue Punkte) und die LDH-Konzentrationen im Serum (rote Quadrate). Die rote Linie stellt den Grenzwert der LDH im Serum bei Pavianen bei 284U/L dar (nach Ekser et al. [171]).

Die LDH-Werte im Serum lagen bei den meisten Tieren weit über dem Normbereich für LDH beim Pavian (284 U/L). Einzig bei Tier 17187 lag der Großteil der Serumwerte im Normbereich.

Tier ID	Protein im Pleuraerguss (g/dl)		n	Protein im Serum (g/dl)		n
16861	2,87	± 0,64	3	4,93	± 0,35	3
17186	3,30	± 0,23	4	5,43	± 0,44	4
17187	2,43	± 0,51	15	4,41	± 0,46	15
17482	4,80		1	6,80		1
17491	2,10	± 0,36	24	4,79	± 0,48	21
17492	1,94	± 0,18	5	4,32	± 0,28	5
17493	2,57	± 0,80	6	5,50	± 0,62	6
17494	2,82	± 0,38	5	4,96	± 0,34	5
17769	1,99	± 0,34	7	4,90	± 0,22	7
17781	2,98	± 0,63	5	5,10	± 0,39	5

Tabelle 11: Darstellung der Mittelwerte mit Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n) von Protein in Pleuraerguss und Serum. ID = Identifikationsnummer

Pavian 17482 hatte die höchsten Proteinwerte im Serum und Erguss (6,80 g/dl bzw. 4,80 g/dl), wohingegen Pavian 17492 die niedrigsten Proteinwerte in Serum und Erguss aufwies ($4,32 \pm 0,28$ g/dl bzw. $1,94 \pm 0,18$ g/dl).

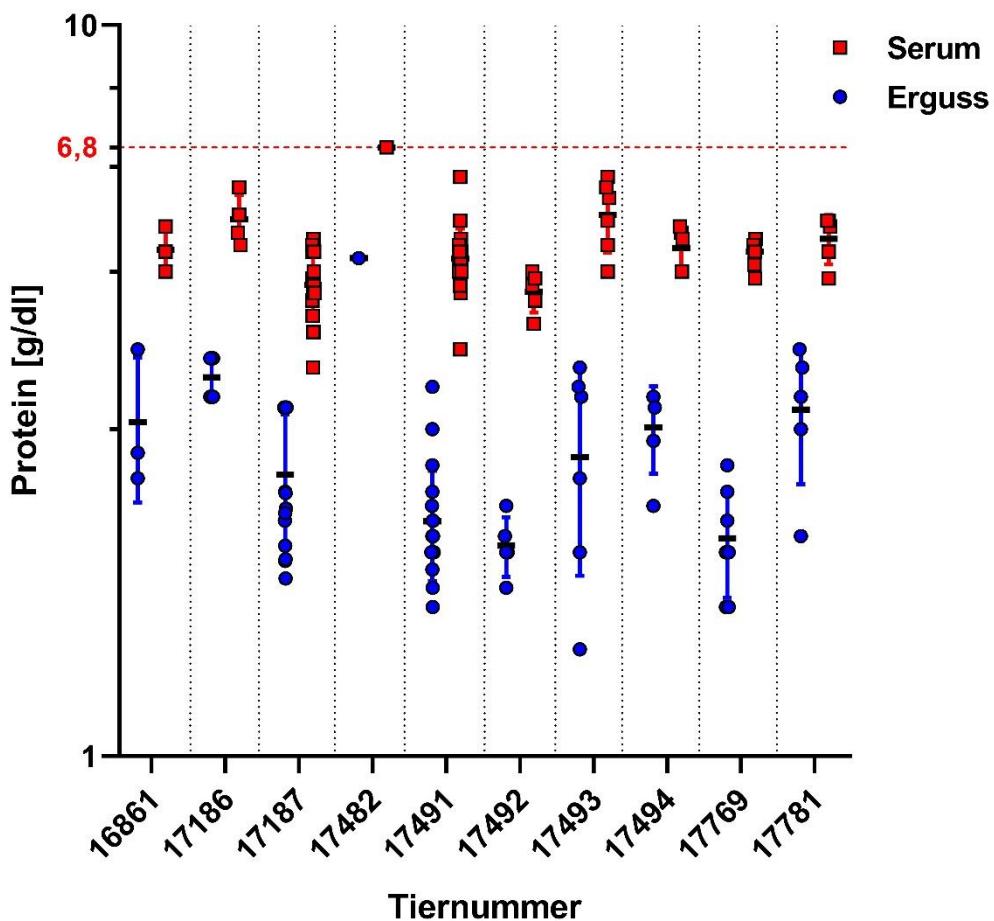


Abbildung 13: Protein im Pleuraerguss und Serum. Die Daten sind als „scatter dot plot“ mit Mittelwert und Standardabweichung abgebildet. Es wurde eine logarithmische Skalierung der y-Achse gewählt. Dargestellt sind die Protein-Konzentrationen im Pleuraerguss (blaue Punkte) und die Protein-Konzentrationen im Serum (rote Quadrate). Die rote Linie stellt den oberen Grenzwert von Protein im Serum beim Pavian bei 6,8 g/dl dar (nach Ekser et al. [171]).

Die Proteinwerte im Serum lagen innerhalb des Grenzbereiches für Paviane (6,8 g/dl). Die Proteinwerte im Erguss waren bei allen Tieren im Mittel niedriger als die Proteinwerte im Serum.

2.1.2. Die verkürzten Light Kriterien

Um die verkürzten Light Kriterien anzuwenden, wurden die Quotienten von Protein und LDH aus Erguss und Serum gebildet (siehe II.8.2) War der Quotient gleich oder kleiner als 0,6 bzw. 0,5 zählte das Pleurapunktat zu den Transsudaten, darüber gelegen waren es Exsudate.

Tabelle 12 gibt einen Überblick über die Mittelwerte der LDH- und Proteinquotienten bei 10 Tieren.

Tier ID	LDH-Quotient		n	Proteinquotient		n
16861	1,10	± 0,18	3	0,58	± 0,09	3
17186	2,40	± 1,80	4	0,61	± 0,02	4
17187	1,30	± 0,38	15	0,45	± 0,03	9
17482	1,50		1	0,71		1
17491	0,68	± 0,16	20	0,44	± 0,04	20
17492	0,39	± 0,16	6	0,52	± 0,12	7
17493	0,57	± 0,16	5	0,50	± 0,12	5
17494	1,80	± 2,30	5	0,57	± 0,07	5
17769	0,76	± 0,11	7	0,40	± 0,06	7
17781	1,90	± 0,20	5	0,58	± 0,08	10

Tabelle 12: Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n) des LDH-Quotienten und des Proteinquotienten bei den einzelnen Pavianen.

Der mittlere LDH-Quotient von allen Tieren lag bei $1,10 \pm 0,90$. Der minimale LDH-Quotient lag bei 0,20, das Maximum bei 5,70. Der Mittelwert des Proteinquotienten von allen Tieren lag bei $0,51 \pm 0,12$. Das Minimum lag bei 0,30, das Maximum bei 0,90.

Abbildung 14 und Abbildung 15 stellen die Quotienten der einzelnen Funktionen graphisch dar.

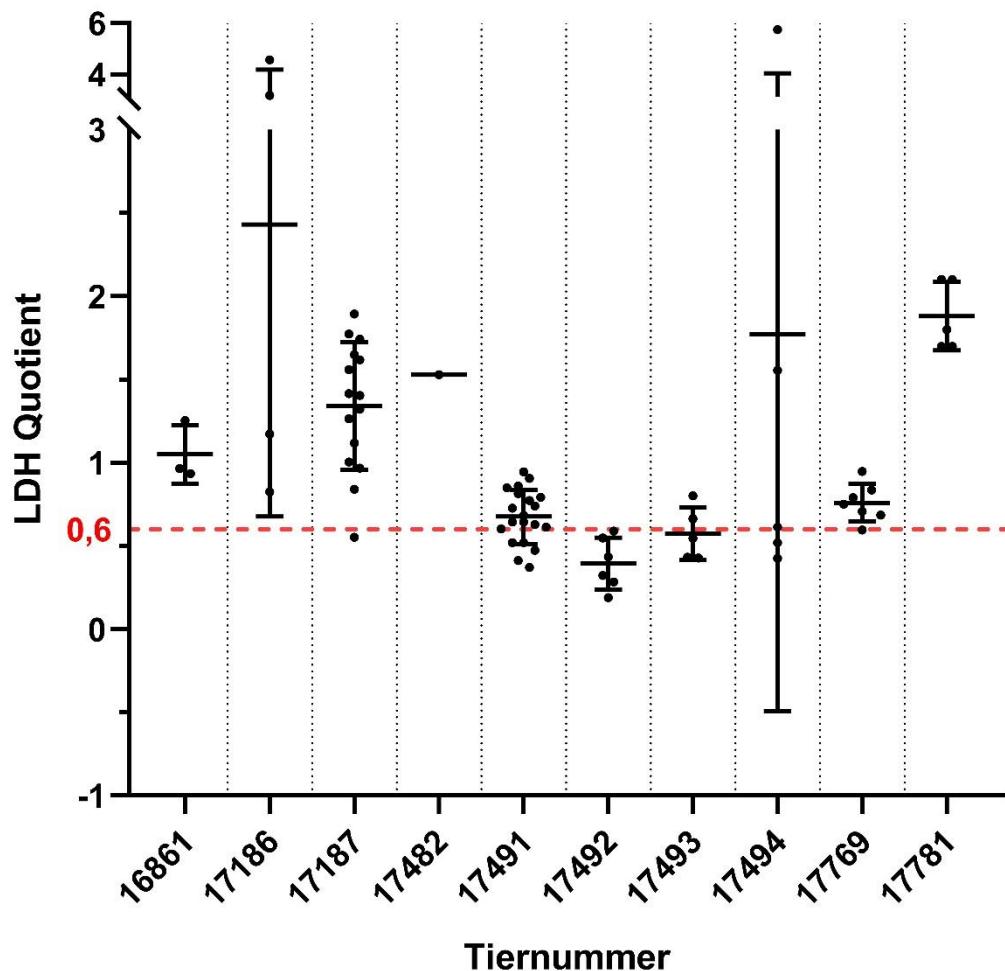


Abbildung 14: LDH-Quotient: Die Daten sind als „scatter dot plot“ mit Mittelwert und Standardabweichung dargestellt. Die gestrichelte rote Linie stellt den Grenzwert der verkürzten Light Kriterien zwischen Exsudat und Transsudat bei 0,6 dar.

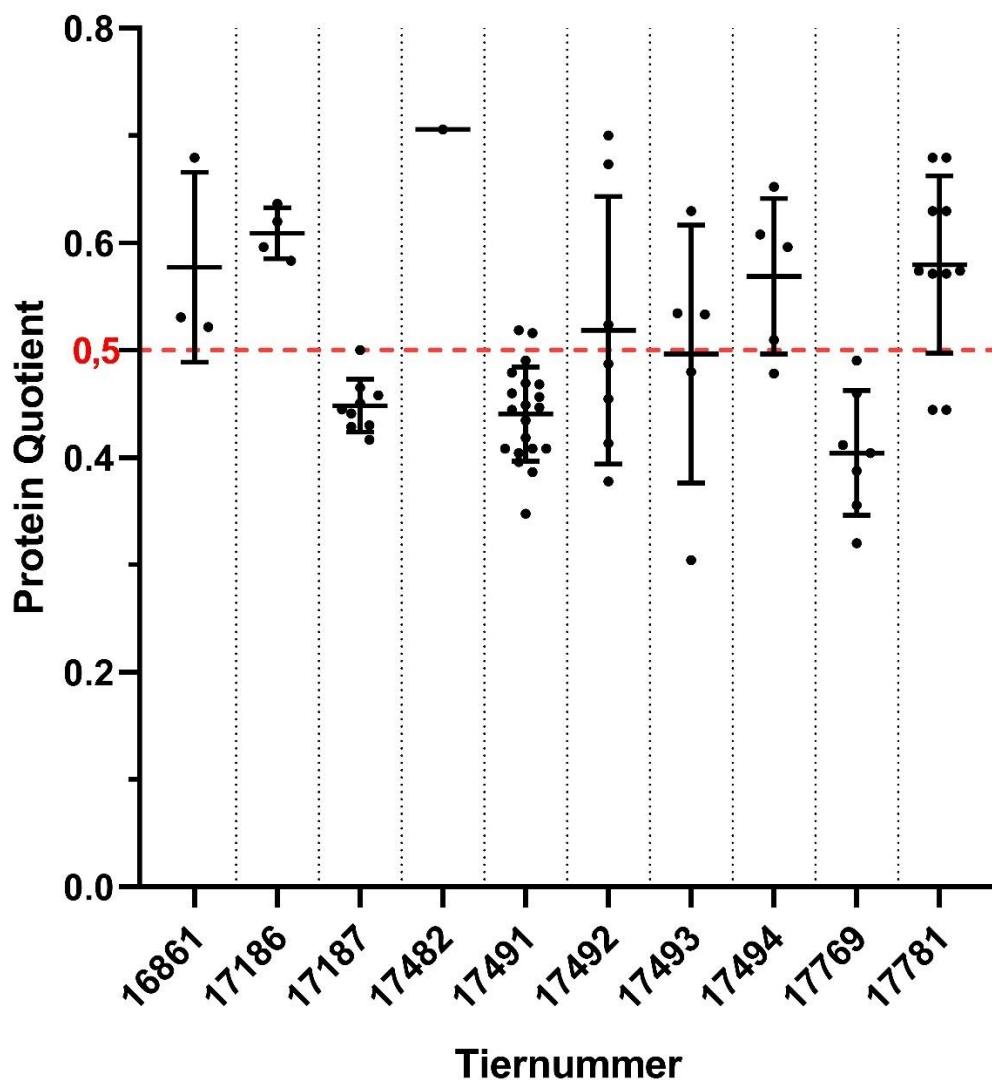


Abbildung 15: Proteinquotient: Die Daten sind als „scatter dot plot“ mit Mittelwert und Standardabweichung dargestellt. Die gestrichelte rote Linie stellt den Grenzwert der verkürzten Light Kriterien zwischen Exsudat und Transsudat bei 0,5 dar.

2.1.3. Die Einteilung in Transsudat und Exsudat

Die Punkte wurden gemäß der verkürzten Light Kriterien in Exsudate und Transsudate eingeteilt und im Weiteren den postoperativen Tagen zugeordnet (Abbildung 16):

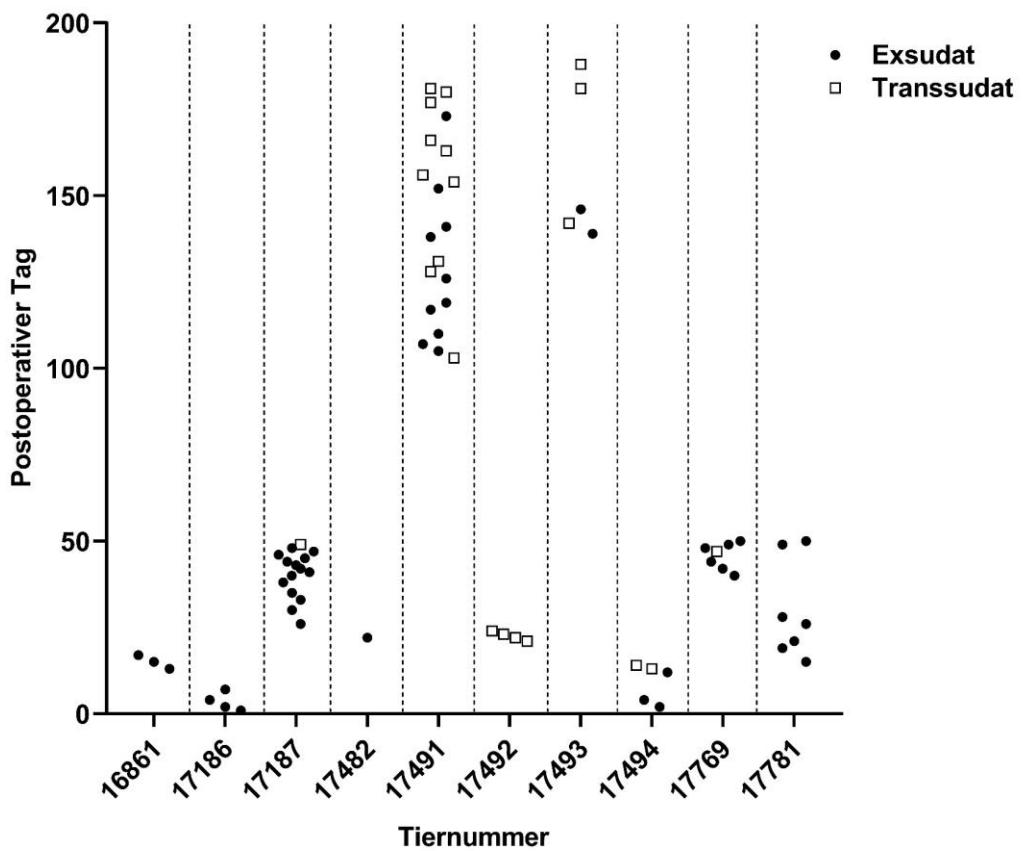


Abbildung 16: Darstellung der Einteilung der Pleuraergüsse in Exsudat (schwarze Punkte) und Transsudat (weiße Quadrate) an den jeweiligen postoperativen Tagen.

Die häufigste Ergussart war das Exsudat. Die Pleuraergüsse von vier Tieren waren während der gesamten Versuchsdauer ausschließlich exsudativer Natur (16861, 17186, 17482 und 17781). Alle Pleurapunkte von Pavian 17492 waren Transsudate. Dieses Tier hatte zusätzlich Perikardergüsse und wird im weiteren Verlauf genauer betrachtet. Die restlichen Tiere hatten sowohl Transsudate, als auch Exsudate über die Versuchszeit (17187, 17769, 17491, 17493 und 17494), wobei auch hier zumeist das Exsudat häufiger vertreten war.

2.1.4. Sonderfall Chylothorax

Das Tier 17187 entwickelte, im Gegensatz zu den anderen Tieren, während der Versuchsdauer erhöhte Triglyceridwerte im Erguss. Es wurde ein chylöser Pleuraerguss festgestellt.

Folgende Grafik (Abbildung 17) zeigt den Verlauf der Triglyceride und des Cholesterins im Pleuraerguss während der Versuchsdauer.

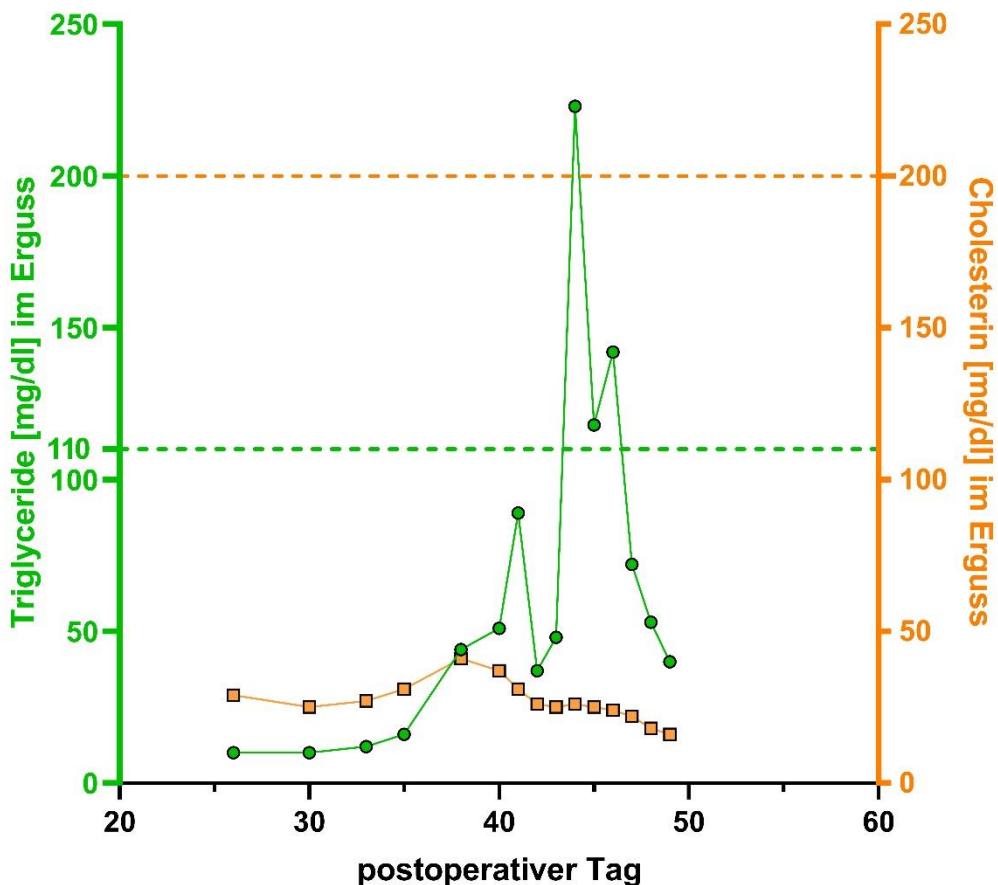


Abbildung 17: Chylothorax bei Tier 17187. Dargestellt sind die Konzentrationen von Triglyceriden (grün) und Cholesterin (orange) im Pleuraerguss über den gesamten Versuchsverlauf. Triglyceridwerte oberhalb von 110mg/dl im Pleuraerguss (grüne gestrichelte Linie) sprechen für das Vorliegen eines Chylothorax. Zusätzlich ist der Grenzwert von Cholesterin bei 200mg/dl eingetragen (gestrichelte orange Linie).

Das Tier 17187 hatte zwischen den postoperativen Tagen 40 und 50 drei Punktate, die auf einen Chylothorax hinweisen. Alle drei Punktate lagen über dem Grenzwert für Triglyceride von 110 mg/dl und unter dem Grenzwert für Cholesterin von 200 mg/dl. Somit waren die Vorgaben für die Diagnose eines Chylothorax erfüllt.

3. Weitere relevante biochemische Parameter im Erguss

Bei der Untersuchung der Pleurapunkte wurden auch die Herzparameter NT-proBNP und Troponin T gemessen, und darüber hinaus der Inflammationsmarker IL-6. Die Werte im Serum und im Pleuraerguss wurden jeweils mit einer Two-Way-ANOVA verglichen.

3.1. NT-proBNP

Tabelle 13 gibt einen Überblick über die einzelnen Mittelwerte von NT-proBNP im Pleuraerguss und im Serum bei 10 Pavianen:

Tier ID	Mittelwert von NT-proBNP im Pleuraerguss (pg/ml)	n	Mittelwert von NT-proBNP im Serum (pg/ml)	n
16861	1636 ± 1329	3	542 ± 257	3
17186	272 ± 118	3	71 ± 39	4
17187	368 ± 294	11	135 ± 113	8
17482	94	1	68	1
17491	402 ± 204	25	167 ± 76	20
17492	1543 ± 127	4	565 ± 238	9
17493	559 ± 430	7	178 ± 157	5
17494	426 ± 147	4	228 ± 173	4
17769	1632 ± 602	6	435 ± 154	6
17781	433 ± 344	5	252 ± 196	5

Tabelle 13: Mittelwerte von NT-proBNP in Pleuraerguss und Serum mit der jeweiligen Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n). ID= Identifikationsnummer

Die niedrigsten Konzentrationen hatte Tier 17482 (Serum: 68 pg/ml; Pleuraerguss: 94 pg/ml), basierend auf einer einzigen Punktation. Die höchsten Konzentrationen im Serum hatte Tier 17492 mit 565 ± 238 pg/ml, die höchsten Konzentrationen im Pleuraerguss hatte Tier 16861 mit 1636 ± 1329 pg/ml. Mit Ausnahme der Paviane 17186 (71 ± 39 pg/ml) und 17482 (68 pg/ml) lagen die Serumwerte im Mittel oberhalb des humanen Grenzwertes von 125 pg/ml.

Die NT-proBNP Werte aller Punktationen sind in Abbildung 18 graphisch dargestellt.

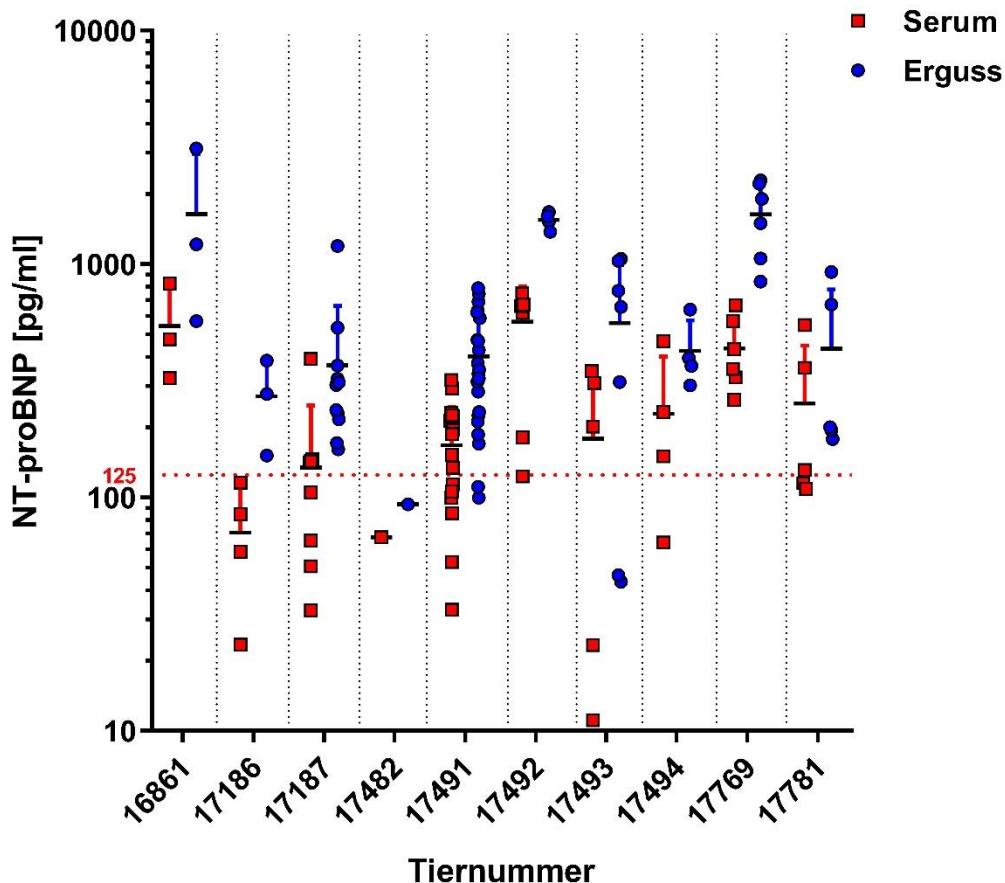


Abbildung 18: NT-proBNP in Serum und Pleuraerguss. Dargestellt sind die Werte als „scatter dot plot“ mit Mittelwert und Standardabweichung, die y-Achse hat logarithmische Skalierung. Die rote gestrichelte Linie, stellt den Grenzwert im Serum beim Menschen bei 125 pg/ml dar [129].

Im Mittel lag das NT-pro BNP im Serum bei 264 ± 185 pg/ml; im Pleuraerguss bei 736 ± 611 pg/ml. NT-proBNP war in den Pleurapunkten im Mittel signifikant höher als im Serum ($F (1, 114) = 45,44$; $p < 0,0001$). Zwischen den einzelnen Versuchstieren konnten ebenfalls signifikante Unterschiede in den mittleren Konzentrationen von NT-proBNP in Pleuraerguss und Serum festgestellt werden ($F (9, 114) = 16,97$, $p < 0,0001$). Das Ausmaß des Messunterschiedes von NT-proBNP in Pleurapunktat und Serum war abhängig vom jeweiligen Versuch; es bestand eine signifikante Interaktion ($F (9, 114) = 5,347$, $p < 0,0001$).

3.2. Troponin T

Tabelle 14 gibt einen Überblick über die einzelnen Mittelwerte von Troponin T im Pleuraerguss und im Serum bei 10 Pavianen:

Tier ID	Mittelwert von Troponin T im Pleuraerguss (ng/ml)	n	Mittelwert von Troponin T im Serum (ng/ml)	n
16861	4,337 ± 3,633	3	0,312 ± 0,211	3
17186	10,335 ± 9,750	4	1,013 ± 0,646	4
17187	2,296 ± 1,048	15	0,160 ± 0,054	15
17482	0,139	1	0,050	1
17491	0,382 ± 0,804	24	0,077 ± 0,054	21
17492	1,094 ± 0,339	5	0,334 ± 0,202	11
17493	0,902 ± 1,462	7	0,114 ± 0,105	6
17494	5,955 ± 5,771	4	0,729 ± 0,388	4
17769	5,067 ± 2,376	6	0,307 ± 0,126	6
17781	1,090 ± 0,550	5	0,158 ± 0,078	5

Tabelle 14: Mittelwerte von Troponin T in Pleuraerguss und Serum mit der jeweiligen Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n). ID = Identifikationsnummer

Die höchsten Troponin T Konzentrationen im Serum ($1,013 \pm 0,646$ ng/ml) und Pleuraerguss ($10,335 \pm 9,750$ ng/ml) hatte Tier 17186. Die niedrigsten Konzentrationen hatte Tier 17482 (Serum: 0,050 ng/ml; Pleuraerguss: 0,139 ng/ml). Die Troponin T Werte im Serum lagen bei allen Tieren oberhalb des humanen Grenzwertes von 0,014 ng/ml.

Folgende Grafik stellt die Werte der einzelnen Punktionen von Troponin T in Serum und Pleuraerguss bei den Pavianen dar (Abbildung 19):

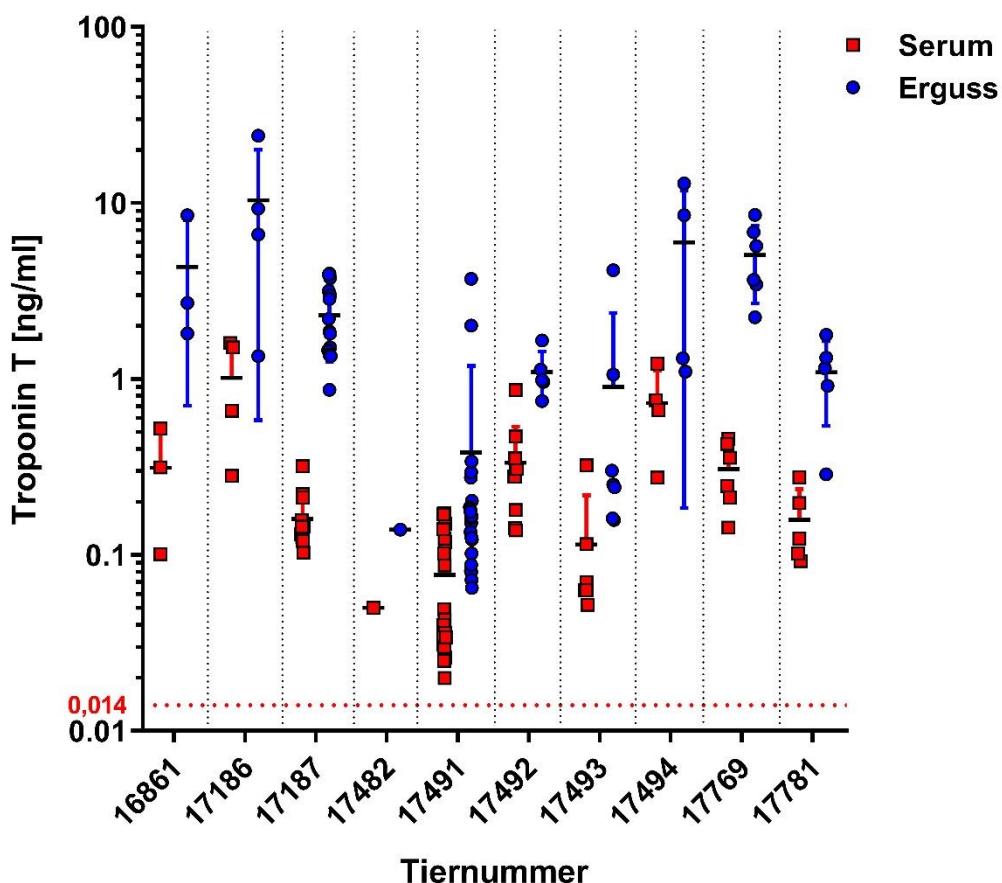


Abbildung 19: Troponin T Konzentration in Serum und Pleuraerguss. Dargestellt sind die Werte als „scatter dot plot“ mit Mittelwert und Standardabweichung, die y-Achse hat logarithmische Skalierung. Die rote gestrichelte Linie stellt den Grenzwert im Serum beim Menschen bei 0,014 ng/ml dar.

Die Konzentrationen von Troponin T im Serum lagen im Mittel bei $0,325 \pm 0,312$ ng/ml, im Pleuraerguss waren sie deutlich höher ($3,160 \pm 3,260$ ng/ml).

Mittels Two-way ANOVA wurden die Unterschiede zwischen den Troponin T Werten in den Pleurapunktaten und den Seren der einzelnen Versuchstiere ebenfalls auf Signifikanz untersucht.

Ähnlich wie bei NT-proBNP war auch Troponin T im Pleurapunktat im Mittel signifikant höher, als im Serum ($F(1, 126) = 38,69; p < 0,0001$). Bezuglich der Konzentration von Troponin T im Serum und Erguss lagen signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren vor ($F(9, 126) = 8,168; p < 0,0001$). Zudem war der Messunterschied vom jeweiligen Versuch abhängig, es bestand eine signifikante Interaktion zwischen den einzelnen Versuchstieren und der Konzentration von Troponin T im Serum und Pleuraerguss ($F(9, 126) = 5,767, p < 0,0001$).

3.3. Interleukin-6

Tabelle 15 gibt einen Überblick über die einzelnen Mittelwerte von IL-6 im Pleuraerguss und im Serum bei 10 Pavianen.

Tier ID	Mittelwert von IL-6 im Pleuraerguss (pg/ml)	n	Mittelwert von IL-6 im Serum (pg/ml)	n
16861	11994,7 ± 4146,8	3	179,7 ± 59,0	3
17186	9179,7 ± 1269,1	3	308,0 ± 142,1	4
17187	14693,1 ± 3550,6	14	137,2 ± 90,8	14
17482	n/a		257,0	1
17491	9776,5 ± 14477,2	25	47,2 ± 46,8	21
17492	5711,6 ± 1444,8	10	538,8 ± 183,1	9
17493	8559,0 ± 4547,3	8	101,7 ± 96,7	6
17494	19101,4 ± 10743,8	5	989,0 ± 1481,9	5
17769	8818,3 ± 1833,4	6	270,8 ± 330,6	6
17781	19996,8 ± 11537,8	5	229,8 ± 68,8	5

Tabelle 15: Mittelwerte von IL-6 in Pleuraerguss und Serum mit der jeweiligen Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n). ID= Identifikationsnummer; n/a = nicht angegeben

Pavian 17494 und Pavian 17492 hatten im Mittel die höchsten Serumwerte (989,0 ± 1481,9 pg/ml und 538,8 ± 183,1 pg/ml); bei diesen Tieren wurde eine Infektion mit PCMV nachgewiesen. Die niedrigste Serumkonzentration hatte Pavian 17491 (47,2 ± 46,8 pg/ml). Im Pleuraerguss hatte Pavian 17781 die höchsten IL-6 Konzentration mit 19996,8 ± 11537,8 pg/ml, die niedrigste hatte Pavian 17492 mit 5711,6 ± 1444,8 pg/ml.

Folgende Grafik stellt die Werte von IL-6 bei jeder einzelnen Punktion im Serum und Pleuraerguss bei den Pavianen dar (Abbildung 20):

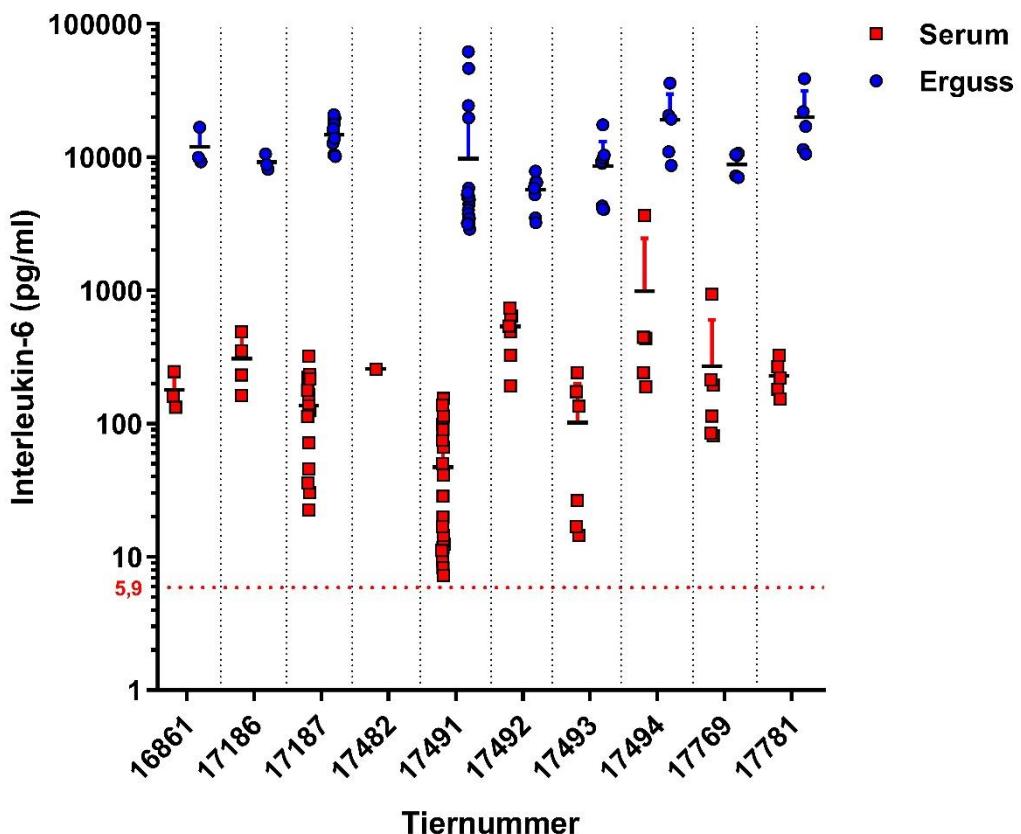


Abbildung 20: Interleukin-6 Konzentrationen in Serum und Pleuraerguss. Dargestellt sind die Werte als „scatter dot plot“ mit Mittelwert und Standardabweichung, die y-Achse hat logarithmische Skalierung. Die gestrichelte rote Linie stellt den Grenzwert für IL-6 im Serum beim Menschen dar (5,9 pg/ml).

Die IL-6 Konzentration im Erguss war bei allen Tieren höher als die Konzentration im Serum. Im Serum lag diese im Mittel bei $305,9 \pm 275,5$ pg/ml, im Pleuraerguss war sie deutlich höher, bei $11981,0 \pm 4950,0$ pg/ml.

Auch die Unterschiede zwischen den IL-6 Werten in den Seren und Pleurapunkten wurden mit Hilfe eine Two-Way ANOVA analysiert.

Die IL-6 Werte im Pleuraerguss waren hierbei signifikant höher als im Serum ($F(1, 134) = 73,92; p < 0,0001$). Es stellte sich jedoch heraus, dass sich die Konzentration von IL-6 in Serum und Pleuraerguss zwischen den einzelnen Tieren nicht signifikant unterschied ($F(8, 134) = 1,743; p = 0,0941$) Ebenfalls bestand keine Interaktion zwischen den Versuchstieren und IL-6 im Pleuraerguss oder Serum, also war das Ausmaß des Messunterschiedes nicht vom jeweiligen Versuch abhängig ($F(8, 134) = 1,658; p = 0,1145$).

4. Sonderfall isolierte Pleura- und Perikardergüsse

Das Tier 17492 hatte als einziges Tier isolierte Perikard- und Pleuraergüsse (Abbildung 21). Das Herz wurde dabei nicht zirkumferent, sondern hauptsächlich im Bereich der Ventrikel vom Perikarderguss umschlossen, der morphologisch deutlich vom Pleuraerguss zu differenzieren war. Bei den Punktionsnäpfchen konnte Material von beiden Ergussarten gewonnen und laborchemisch aufbereitet werden.

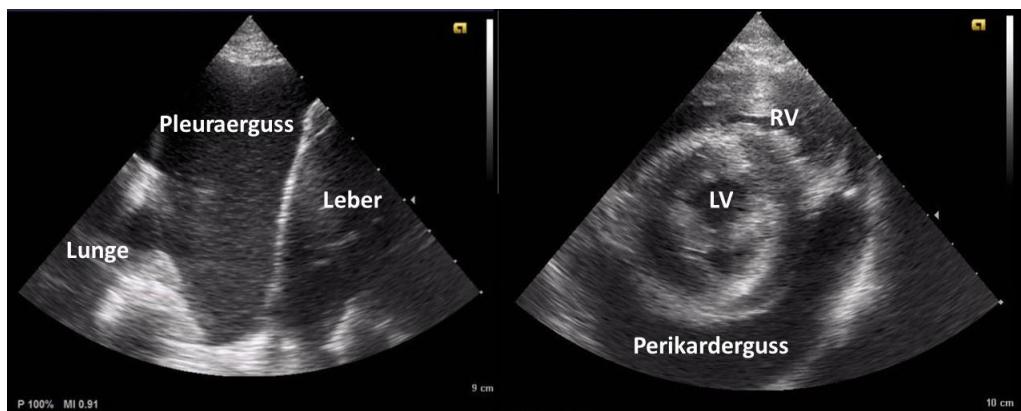


Abbildung 21: Ultraschallbild von Pleura- und Perikarderguss von Pavian 17492. Das linke Ultraschallbild zeigt den Pleuraerguss zwischen Lunge und Leber. Zwischen beiden Ergussarten besteht keine Verbindung. Im rechten Bild ist das Herz in der Kurzachse auf Höhe der Papillarmuskelebene dargestellt. In der Mitte befindet sich der linke Ventrikel, darüber ist der rechte Ventrikel erkennbar. Unterhalb des linken Ventrikels ist ein halbmondförmiger Perikarderguss erkennbar. Die Aufnahmen stammen vom gleichen Untersuchungsgang. RV = rechter Ventrikel; LV = linker Ventrikel

Tabelle 16 gibt die Werte von LDH und Protein in Serum und Perikarderguss an den einzelnen postoperativen Tagen an:

POD	LDH im Serum (U/L)	LDH im Perikarderguss (U/L)	Protein im Serum (g/dl)	Protein im Perikarderguss (g/dl)
14	1783	976	6	4,2
16	1991	1174	4,9	3,3
22	14495	5878	4,4	2,7
23	13620	9089	4,6	2,6
24	20668	13128	3,9	2,4
25	> 24000	16430	4,1	2,5

Tabelle 16: Gemessene LDH- und Proteinwerte in Serum und Perikarderguss. POD= postoperative day (postoperativer Tag)

Im Folgenden wurden der Proteinquotient und der LDH-Quotient aus Perikarderguss und Serum berechnet. Der Proteinquotient lag im Mittel bei $0,63 \pm 0,05$, der LDH-Quotient bei $0,56 \pm 0,11$ und die LDH im Perikarderguss lag bei 7779 ± 6304 . Den verkürzten Light Kriterien folgend wären die Perikardergüsse als

exsudativ zu klassifizieren, eine Verwendung der Light Kriterien zur Einteilung von Perikardergüssen ist jedoch nicht validiert.

Die Messung der Parameter Troponin T, NT-proBNP und IL-6, sowohl im Perikarderguss als auch im Pleuraerguss ergab folgendes Ergebnis (Tabelle 17):

	Serum	n	Perikarderguss	n	Pleuraerguss	n
Troponin T (ng/ml)	0,342 ± 0,240	8	3,222 ± 1,821	6	1,094 ± 0,339	5
NT-proBNP (pg/ml)	686 ± 466	8	763 ± 364	5	1869 ± 737	5
IL-6 (pg/ml)	3885,9 ± 6920,6	8	5367,3 ± 1776,7	6	10047,8 ± 8559,2	5

Tabelle 17: Troponin T, NT-proBNP und IL-6 von Pavian 17492 in Serum, Perikarderguss und Pleuraerguss. Angegeben sind die Mittelwerte der Messungen mit Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n).

Abbildung 22 stellt die Messwerte von Troponin T, NT-proBNP und IL-6 an den einzelnen Versuchstagen graphisch dar.

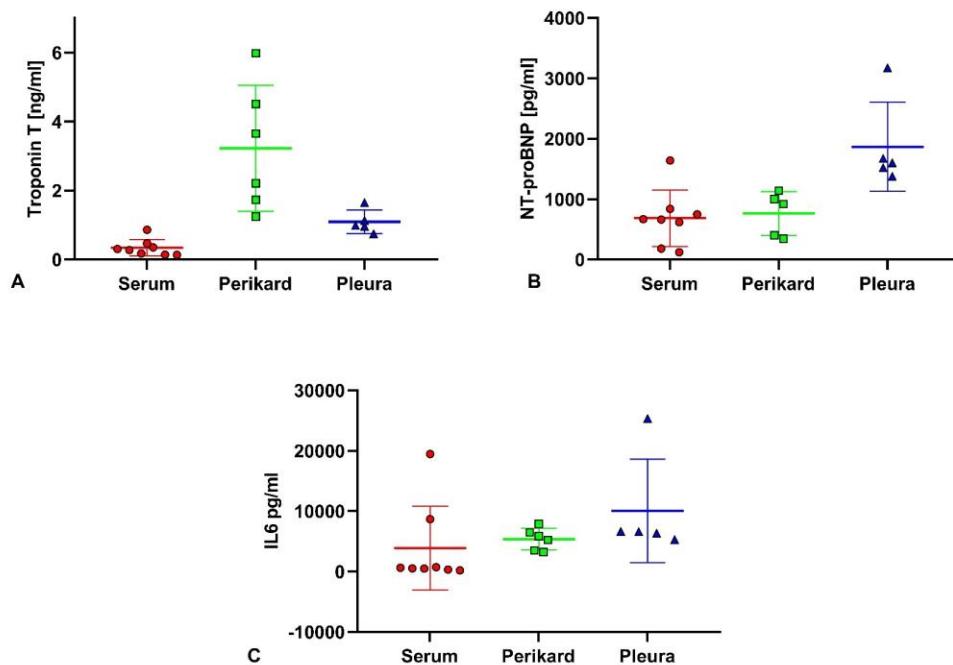


Abbildung 22: Troponin T (A), NT-proBNP (B) und IL-6 (C) in Serum (rot), Perikarderguss (grün) und Pleuraerguss (blau) von Pavian 17492. Die Werte sind jeweils als „scatter dot plot“ mit Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

Mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests für nichtparametrische Daten wurden die drei Messwerte Troponin T, NT-proBNP und IL-6 in Serum, Perikard- und Pleuraerguss verglichen:

Der Unterschied der Troponin T Werte zwischen Serum und Perikarderguss war mit $p = 0,0004$ signifikant; die Konzentrationen im Perikarderguss waren signifikant höher als im Serum. Zwischen Serum und Pleuraerguss ($p = 0,1407$) und Perikard- bzw. Pleuraerguss ($p = 0,3526$) lagen dagegen keine signifikanten Unterschiede vor.

Die NT-proBNP Werte im Serum waren signifikant niedriger als die NT-proBNP Werte im Pleuraerguss ($p = 0,0134$). Kein signifikanter Unterschied lag dagegen bei den NT-proBNP Konzentrationen zwischen Serum und Perikarderguss ($p > 0,9999$) bzw. Perikarderguss und Pleuraerguss ($p = 0,0852$) vor.

Der Vergleich von IL-6 zwischen Serum und Perikarderguss ($p = 0,6829$) bzw. Pleuraerguss ($p = 0,0873$) und zwischen Pleuraerguss und Perikarderguss ($p = 0,9839$) war nicht signifikant. Bei der IL-6 Messung traten an den letzten beiden Tagen hohe Ausreißer auf, unter Ausschluss dieser waren die IL-6 Konzentrationen in Pleura- ($p = 0,0097$) und Perikarderguss ($p = 0,0401$) signifikant höher als im Serum.

5. Entwicklung und Verlauf von Pleuraergüssen nach Xenotransplantation

5.1. Überblick

Das mittlere EEV von allen 15 Tieren betrug 4463 ± 4598 ml. Das geringste EGV lag bei 350 ml (Pavian 16701) und das höchste bei 17280 ml (Pavian 17187). Einen Überblick über die Daten im Verhältnis zur Überlebenszeit gibt Tabelle 18.

Tier-ID	Überlebenszeit [d]	EGV [ml]	ETV [ml]	Mittleres EEV [ml]	n
17188	11	4850	440,9	606 \pm 583	8
17494	15	2650	176,7	442 \pm 172	6
16048	18	1330	73,9	333 \pm 122	4
16861	18	1220	67,8	407 \pm 93	3
17140	27	2010	74,4	287 \pm 171	7
17492	27	2270	84,1	227 \pm 120	10
17781	28	4150	143,1	830 \pm 390	5
17139	40	8645	216,1	576 \pm 293	15
17187	51	17280	338,8	823 \pm 391	21
17769	51	5950	116,7	850 \pm 227	7
16701	90	350	3,9	350	1
17186	90	1920	21,3	274 \pm 90	7
17482	90	1125	12,5	563 \pm 124	2
17491	182	10700	58,8	396 \pm 151	27
17493	195	2500	12,8	278 \pm 144	9

Tabelle 18: Übersicht über die Pleuraergussvolumina bei den 15 Pavianen. ID = Identifikationsnummer, d = days (Tage), EGV = Ergussgesamtvolumen, EEV= Ergusseinzelvolumen, ETV = Ergussstagesvolumen, n = Anzahl der Thorakozentesen

In Abbildung 24 ist die Entwicklung der Ergussvolumina über den Versuchszeitraum dargestellt. Die einzelnen Paviane zeigten einen unterschiedlichen Verlauf der Ergussentwicklung. Bei manchen Tieren nahm das Ergussvolumen rasch zu und sie mussten während des Versuches häufig punktiert werden (z.B. Pavian 17187 und 17139). Bei anderen Tieren stieg das Ergussgesamtvolumen nur langsam an, Punktionen waren weniger häufig nötig (z.B. Pavian 16861 und 17482). Das Tier 17491 entwickelte ab POD 100 häufiger punktionswürdige Ergüsse mit steigendem Volumen. Bei diesem Tier, wie auch bei Pavian 17493, wurde ab POD 90 ein geringes, aber progredientes Herzschwachstum festgestellt. Die Wände des linken Ventrikels erschienen in der Echokardiographie verdickt (Abbildung 23). Manche der Paviane hatten schon früh nach der Operation Ergüsse (z.B. die Tiere 17186, 17140, 17188, 17491 und 16701), einige

entwickelten die Ergüsse erst im späteren Versuchszeitraum (z.B. die Paviane 17187, 17139 und 17769).

Die jeweils erste Ergusspunktion nach der Operation war bei manchen Tieren durch einen hohen Anteil an Erythrozyten gekennzeichnet (16861: 135.000/ μ l; 17482: 3.300.000/ μ l; 17493: 2.200.000/ μ l; 17494: 137.000/ μ l, 17781: 913.000/ μ l), makroskopisch erschienen sie altblutig tingiert.

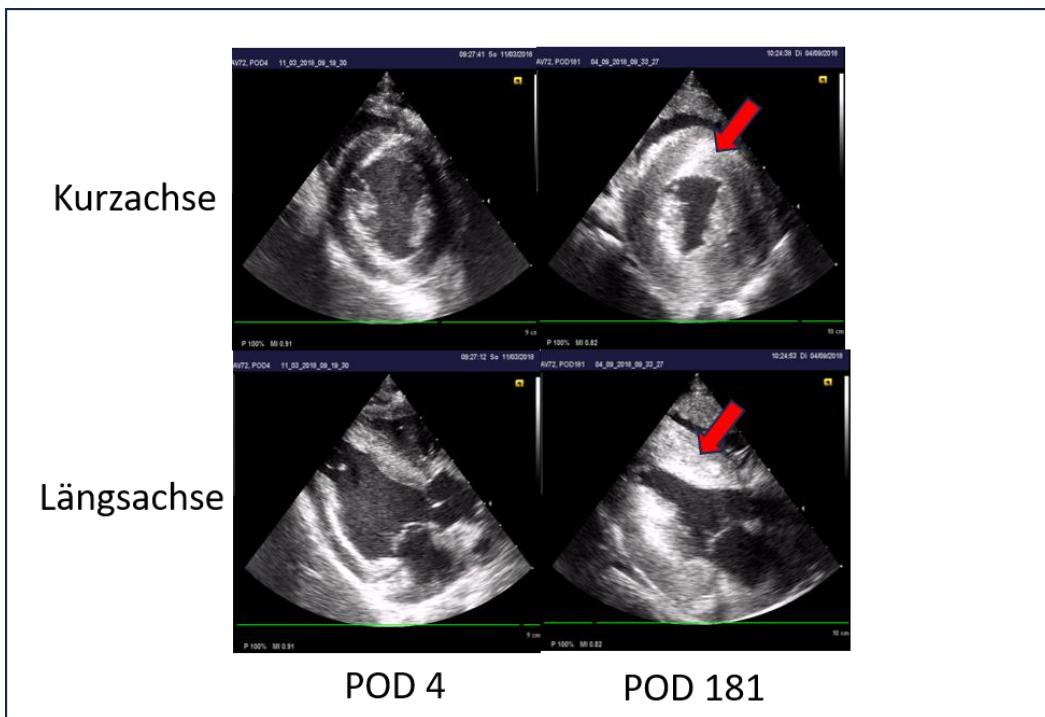


Abbildung 23: Echokardiographische Aufnahmen des linken Ventrikels von Pavian 17493. Die beiden linken Aufnahmen wurden am Anfang des Versuches am 4. postoperativen Tag erstellt, die beiden rechten Bilder zum Versuchsende am 181. postoperativen Tag. Die Bilder der oberen Reihe wurden in der Kurzachse aufgenommen, die Bilder in der unteren Reihe in der Längsachse. Die Zunahme der Wanddicke des linken Ventrikels an POD 181 (rote Pfeile), im Vergleich zu POD 4, ist deutlich sichtbar

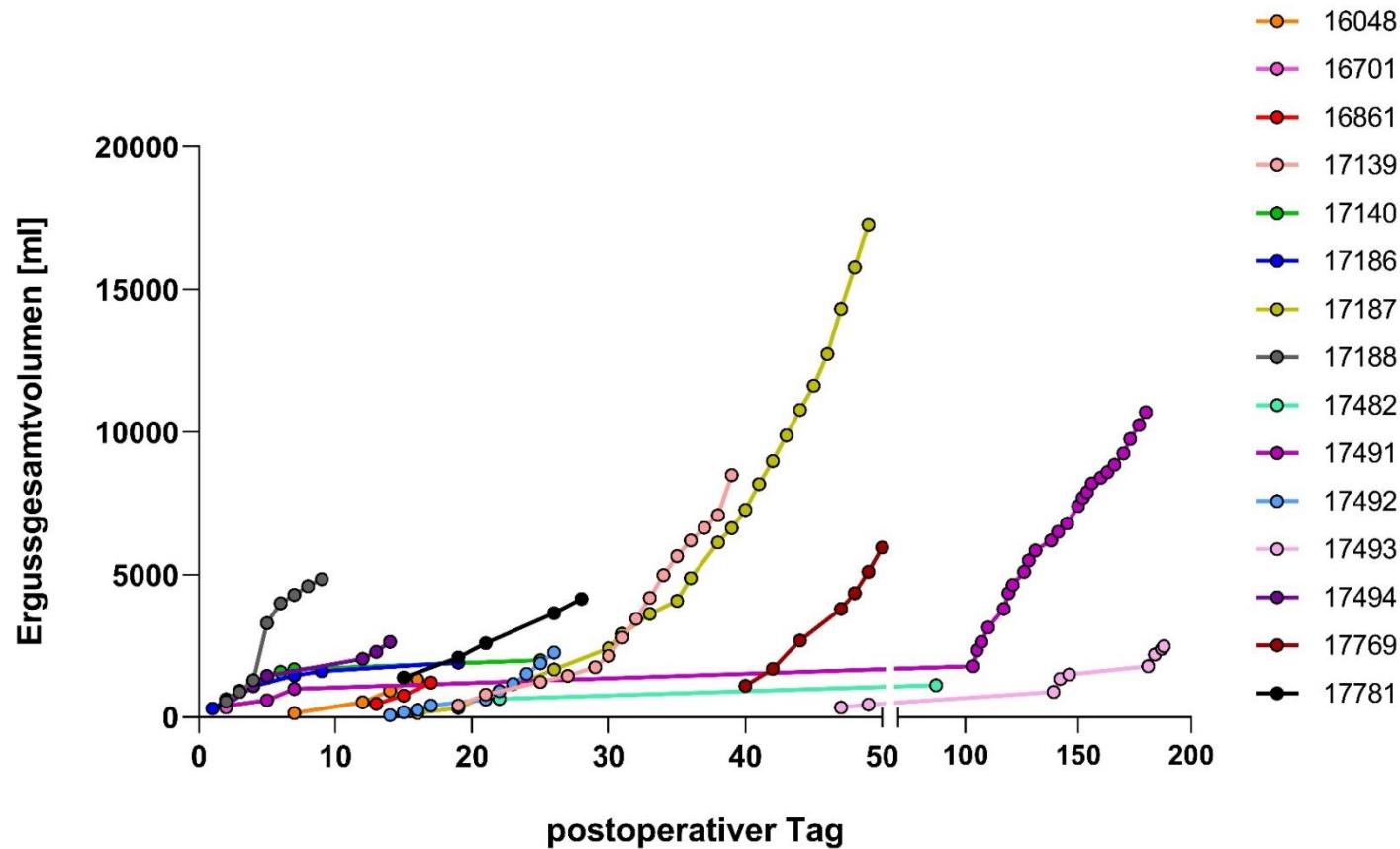


Abbildung 24: Pleuraergussentwicklung über den Versuchszeitraum. Dargestellt ist das Ergussgesamtvolume (EGV) bei jedem einzelnen Tier. Die Tiere 16048, 16861, 17139, 17187, 17188, 17769 und 17781 wurden mit anti-CD40L PAS Fab behandelt. Bei den Tieren 16048, 17139, 17140, 17494 und 17492 wurde eine Infektion mit PCMV festgestellt. Das Tier 17188 zeigte zusätzlich venöse Thrombosen, wie auch das Tier 17187. Die Tiere 16701, 17186, 17482, 17491 und 17493 erreichten das Studienziel

5.2. Einflussfaktoren auf die Ergussvolumina

Im Folgenden wurde getestet, welche Faktoren einen Einfluss auf die Bildung von Pleuraergüssen bei den einzelnen Pavianen haben. Mittels multipler linearer Regressionsanalyse wurde geprüft, ob die Wahl der Kostimulationsblockade (anti-CD40-AK oder anti-CD40LPAS Fab), eine Infektion mit PCMV, das überschießende Graftwachstum durch fehlende Behandlung mit Antihypertensiva und dem Wachstumshemmer Temsirolimus und die Entwicklung von venösen Thrombosen einen Einfluss auf das Ergussstagesvolumen hatten (Tabelle 19 **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).

Tier-ID	ETV [ml]	anti-CD40 AK	anti-CD40L PAS Fab	PCMV	venöse Thrombose	Wachstums-hemmer
16048	73,9		x	x		
16701	3,9	x				x
16861	67,8		x			x
17139	216,1		x	x	x	
17140	74,4	x		x		
17186	21,3	x				x
17187	338,8		x		x	x
17188	440,9		x	x		x
17482	12,5	x				x
17491	58,8	x				x
17492	84,1	x		x		x
17493	12,8	x				x
17494	176,7	x		x		x
17769	116,7		x			x
17781	143,1		x			x

Tabelle 19: Übersicht über die Verteilung der Referenzkategorien für die multiple lineare Regressionsanalyse bei den 15 Pavianen: Wahl der Kostimulationsblockade (anti-CD40 AK oder anti-CD40L PAS Fab), Infektion mit PCMV, venöse Thrombose und Gabe von Wachstumshemmern. Zusätzlich ist jeweils die abhängige Variable des Ergussstagesvolumens (ETV) angegeben. ID = Identifikationsnummer, PCMV = porzines Cytomegalievirus

Das Modell der multiplen linearen Regression war mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,7808$ und $p = 0,0025$ ($F(4,10 = 8,904)$) statistisch signifikant.

Alle Variablen hatten einen signifikanten Einfluss auf das Ergussstagesvolumen. Bei einer Infektion mit PCMV stieg das ETV um $178,4 \pm 46,96$ ml an ($p = 0,0035$). Tiere die keine Wachstumshemmung mit Temsirolimus und Antihypertensiva erhielten, hatten ein um $204,5 \pm 60,20$ ml höheres ETV, im Vergleich zu den Tieren die damit behandelt wurden ($p = 0,0068$).

Tiere mit einer anti-CD40L PAS Fab Kostimulationsblockade hatten um $123,8 \pm$

39,96 ml höhere ETV als Tiere die anti-CD40 AK erhielten ($p = 0,0113$). Zudem zeigten drei der Tiere Zeichen einer zellulären (17769 und 17781) bzw. humoralen (16861) Abstoßungsreaktion.

Eine venöse Thrombose erhöhte das ETV um $152,5 \pm 60,41$ ml ($p = 0,0302$).

VI. DISKUSSION

1. Quantitative Analyse von Pleuraergüssen

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Hilfe der Sonographie eine einfach anzuwendende Formel zu erstellen, um das Volumen von Pleuraergüssen beim Pavian nach kardialer Xenotransplantation berechnen zu können. Vorlage hierfür waren ähnliche Formeln, wie sie bereits in humanmedizinischen Studien erstellt und angewendet wurden.

1.1. Methodendiskussion

1.1.1. Einfluss von Gewicht und Körperoberfläche auf die Ergussvolumina

Für die Erstellung einer Formel zur Abschätzung von Pleuraergüssen mittels Ultraschall beim Menschen wurden in wissenschaftlichen Arbeiten der Humanmedizin die Ergusseinzelvolumina mit den im Ultraschall gemessenen Strecken korreliert [153, 162, 164, 172, 173].

Nach einer Studie von Eibenberger et al. sind Ultraschallmessungen von der Größe der Thoraxhöhle abhängig [172]. Größere Menschen haben einen größeren Thorax und somit kann sich die Ergussflüssigkeit über einen größeren Bereich verteilen als bei kleineren Personen. Folglich kann bei Messungen der Ergusshöhe zwischen Zwerchfell und Lunge, wie sie auch in vorliegender Studie durchgeführt wurden, das Ergussvolumen bei einem großen Menschen unterschätzt und bei einem kleinen Menschen überschätzt werden [162, 172]. Auch die Paviane in dieser Studie waren unterschiedlich schwer und groß, zudem gehörten sie zwei verschiedenen Spezies an. Die Tiere 16701 und 16861 waren Mantelpaviane, die weiteren Tiere Anubispaviane. Letztere wiegen im Durchschnitt mehr (24 kg) als Mantelpaviane (16,4-21,3 kg) [174, 175]. Aufgrund dieser Unterschiede wurde vor der linearen Regressionsanalyse das Ergusseinzelvolumen mit dem Gewicht oder der KOF korreliert, um eventuelle Auswirkungen dieser Faktoren in die spätere Formel integrieren zu können und eine möglichst präzise Berechnung des Ergussvolumens zu erzielen.

Die Korrelation des Ergusseinzelvolumens mit Gewicht und KOF ergab jedoch nur eine mittlere Korrelation. Aus der Arbeit von Leigh et al. zum Wachstum und der

Entwicklung von Pavianen geht hervor, dass sich der Brustumfang und die KOF bei männlichen Pavianen im Alter zwischen 4-7 Jahren nicht stark verändern [170]. Sechs der acht Tiere in vorliegender Studie waren in diesem Altersbereich. Dies könnte ein möglicher Grund dafür sein, dass Gewicht und KOF in dieser Altersgruppe keine relevanten Auswirkungen auf das Ergussvolumen haben. Nachdem in vorliegender Studie weder junge Paviane (unter 4 Jahren), noch ältere Paviane (über 7 Jahren) untersucht wurden, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass eine Indizierung bei einer anderen Verteilung der Altersgruppen doch sinnvoll wäre. Zusätzlich untersuchte die Studie von Leigh et. al mehr Anubispaviane als Mantelpaviane [170]. Auch die Rasse der Tiere könnte also durchaus eine Rolle spielen. Für diese Thesen ist die Datenlage in vorliegender Studie nicht ausreichend, weshalb im weiteren Verlauf auf eine Indizierung der Ergusseinzelvolumina mit der KOF oder dem Gewicht verzichtet wurde.

1.1.2 Auswahl der Messmethode

Dem Kenntnisstand der Autorin nach, gibt es nur zwei veterinärmedizinische Studien zur Abschätzung von Pleuraergüssen mittels Sonographie bei Hund und Katze [165, 166]. Quantitative sonographische Messungen von Pleuraergüssen beim Pavian existieren bis dato nicht. Die Messmethoden aus der Studie an Hunden und Katzen eignet sich jedoch nicht für die Anwendung am Pavian. In beiden genannten Publikationen wurde ein suprasternales Schallfenster oberhalb des Herzens gewählt und die Messungen wurden nach ventrolateral an die beiden äußersten Lungenränder durchgeführt. Die Tiere wurden zudem in Brustlage geschallt, so dass Ergüsse sich ventral ansammelten [165, 166]. Die Pleuraergüsse beim Pavian hingegen wurden in der hinteren Axillarlinie und in Sitzposition geschallt, die für Primaten eine natürliche Position ist.

Deshalb wurde bei der Suche nach einer geeigneten Messmethode auf Untersuchungen aus der Humanmedizin zurückgegriffen, die ebenfalls am sitzenden Patienten durchgeführt wurden. Da sich Ergüsse der Schwerkraft folgend im Sitzen basal oberhalb des Zwerchfells sammeln [160], konnten sie dort gut eingesehen werden, weshalb sich die Messung der maximalen Ergusshöhe zwischen Lunge und mittlerer Höhe des Zwerchfells gut eignete.

Die maximale Ergusshöhe wurde in Anlehnung an die Messungen von Goecke et al. gewählt [161]. Jene Messungen hatten einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,59$. Die Messungen von H_{max} in dieser Arbeit erbrachten im Vergleich dazu eine

bessere Korrelation ($r = 0,8809$), weshalb sie für die anschließende Regressionsanalyse mit den Ergusseinzelvolumina verwendet wurde.

Die Formel, die bei Goecke et al. die höchste Korrelation hatte ($V = 70 \times$ basaler (peripherer) Lungen- Zwerchfellabstand + maximale Ergusshöhe; $r = 0,87$), konnte in vorliegender Arbeit nicht verwendet werden, da der äußere periphere Lungenrand teilweise nicht sicher einsehbar war. Ebenso konnte die maximale Ergusshöhe an der lateralen Thoraxwand retrospektiv nicht mehr bestimmt werden.

1.2. Einschränkungen bei der sonographischen Untersuchung

Bei der Auswertung der Ultraschallbilder kam es zu einigen Einschränkungen und Herausforderungen, die vor allem auf der unterschiedlichen Qualität des sonographischen Bildmaterials basierten. Die Untersuchungen am Pavian mussten so kurz wie möglich gehalten werden. Je länger die Sedation dauert, umso größer ist die daraus resultierende Belastung für das Tier. Neben der Untersuchung des Tieres auf Pleuraergüsse wurde unter anderem auch eine sonographische Untersuchung des Herzens, eine klinische Untersuchung, die Gewinnung von Laborproben und der Austausch des Tethering-Systems vorgenommen. Die Zeit für die Erstellung der Pleuraerguss-Bilder war somit begrenzt.

Usta et al. schlossen den Einfluss einer hohen Intra- und Interobserver Variabilität bei der Durchführung ihrer Ultraschallmessungen nicht aus [162]. Auch in der vorliegenden Arbeit konnten die sonographischen Untersuchungen nicht immer von derselben Person durchgeführt werden (Interobserver-Variabilität) und unterlagen so einer gewissen Ungenauigkeit. Kumar et al. führten eine Untersuchung zur Interobserver-Variabilität bei verschiedenen Lungenultraschallbefunden durch. Hierbei war die Interobserver-Variabilität für das Auffinden und das Ausmaß von Pleuraergüssen jeweils nur moderat [176]. Variabilitäten zwischen verschiedenen Untersuchern, beispielsweise bei Wahl und Winkel des Schallfensters sind auch in dieser Arbeit nicht auszuschließen und könnten Auswirkungen auf die Genauigkeit späterer Messungen gehabt haben. Schon eine geringe Neigung des Schallkopfes kann dazu führen, dass das Ultraschallbild schief zur Transversalebene ist und der Erguss überschätzt wird [162]. Des Weiteren wurden die Ultraschalluntersuchungen bei einigen Tieren, vor allem in früheren Versuchen, nicht im Hinblick auf eine spätere Quantifizierung der Pleuraergüsse durchgeführt, weshalb manche der gespeicherten Bilder nicht die optimale Qualität für eine Vermessung der Ergüsse lieferten.

Bei sehr großen Ergüssen war es zudem teilweise nicht möglich, die Grenzen des Ergusses vollständig darzustellen, wodurch diese möglicherweise nicht in ganzer Vollständigkeit vermessen wurden. Dies mag auch der Tatsache geschuldet sein, dass aufgrund der Größe der Tiere und den damit schmalen Abständen zwischen den einzelnen Rippenpaaren ein pädiatrischer Sektorschallkopf für die Ultraschalluntersuchung verwendet wurde. Dadurch ist das Sichtfeld eingeschränkter im Vergleich mit einem Linear-, oder Konvexschallkopf für Erwachsene. Ebenso ist die Eindringtiefe der Schallwellen geringer, was zusätzlich Auswirkungen auf die Qualität des Ultraschallbildes und dadurch auf die Messgenauigkeit gehabt haben könnte. Auch Schallauslösungen durch Lunge und Rippen erschweren in manchen Fällen eine exakte Vermessung der Ergusshöhe zwischen Lunge und Zwerchfell. Des Weiteren führte in wenigen Fällen eine starke Septierung des Ergusses zum Ausschluss dieses Ultraschallbildes.

1.3. Stichprobenumfang

Der Stichprobenumfang in humanmedizinischen Studien zur quantitativen Analyse von Pleuraergüssen ist unterschiedlich groß. Hassan et al. untersuchten 46, Ibitoye et al. 32, Goecke et al. 40 und Usta et al. 135 Fälle [153, 161, 162, 164]. In vorliegender Arbeit wurden 53 Ultraschallaufnahmen von insgesamt acht Tieren untersucht. Die Anzahl der untersuchten Tiere in vorliegender Studie ist im Vergleich zur Anzahl der Patienten in den Ultraschall-Studien beim Menschen geringer. Insgesamt wurden jedoch mehr Ultraschallaufnahmen untersucht als in manchen der genannten Studien, d.h. bei jedem Tier wurden mehrere Aufnahmen zu unterschiedlichen Zeitpunkten gemacht.

Eine Vergrößerung des Stichprobenumfangs im vorliegenden Versuchssetting der kardialen Xenotransplantation von Schwein auf Pavian ist nicht ohne weiteres möglich. Versuche an NHPs werden durch die Regierung von Oberbayern besonders stark reglementiert und werden nur dann genehmigt, wenn wissenschaftlich begründet werden kann, dass sie für das Erreichen des Versuchsziels unerlässlich sind und keine anderen Tierarten verwendet werden können, um das Forschungsziel zu erreichen [177]. Nach dem Prinzip der 3 R's (Reduce, Refine, Replace) wird in diesen Versuchen darauf geachtet, die Stichprobenanzahl so gering wie möglich zu halten. Deshalb ist es z.B. nicht möglich, einzelne Tiere gezielt zur genaueren Untersuchung der Beziehung

zwischen Pleuraerguss und sonographischer Quantifizierung zu verwenden. Ebenso muss, wie schon genannt, die Belastung der Tiere auf ein Minimum beschränkt sein, weshalb Untersuchungen in Sedation möglichst kurzgehalten wurden. Eine weitere sehr präzise Methode zur Volumenbestimmung von Pleuraergüssen wäre eine Untersuchung mittels Computertomographie [178]. Auch diese war in unseren Versuchen nicht durchführbar, da eine zusätzliche Narkose und damit zusätzliche Belastung für das Tier erforderlich gewesen wäre. Der Vorteil einer sonographischen Untersuchung liegt vor allem in der schnellen und nicht invasiven Durchführbarkeit.

1.4. Volumenberechnung von Pleuraergüssen

Mit der aus der linearen Regression abgeleiteten Formel (EEV [ml] = $7,9 \times H_{\max}$ [mm] – 8,9) können Pleuraergüsse beim Pavian durch die Bestimmung der maximalen Ergusshöhe zwischen Lunge und Zwerchfell mittels Ultraschall einfach abgeschätzt werden. Die Identifizierung von Lunge und Zwerchfell und anschließende Vermessung des Ergusses ist durch einen Untersucher mit Vorkenntnissen in der Durchführung von Ultraschalluntersuchungen, einfach und mit großer Genauigkeit umsetzbar.

Wie auch in der Humanmedizin, ist in der postoperativen Phase der orthotopen kardialen Xenotransplantation von Schwein auf Pavian die Quantifizierung eines Pleuraergusses vor einer Thorakozentese wichtig. Eine Thorakozentese birgt immer das Risiko von iatrogenen Blutungen, Infektionen oder der Entstehung eines Pneumothorax, weshalb die Entscheidung zur Punktionszeit eines Pleuraergusses nicht leichtfertig getroffen werden kann [162, 179]. Durch Berechnung des Ergussvolumens (zusammen mit dem klinischen Bild) kann im Vorfeld klar abgeschätzt werden, ob eine Punktionsnotwendigkeit besteht oder nicht [153]. So können längere Narkosezeiten und unnötige Belastungen für das Tier vermieden werden. Durch die Abschätzung der Ergussmenge kann auch der Verlauf der Ergussbildung exakt dokumentiert werden. So kann unter Umständen auch differenziert auf mögliche Ursachen der Pleuraergüsse rückgeschlossen werden, da das Ausmaß der Ergüsse konsequent in einen zeitlichen Zusammenhang mit dem klinischen Bild und Laborwerten des Tieres gebracht werden kann. Ebenso kann ein Therapieerfolg, z.B. im Falle von Antibiotikagabe bei Verdacht auf eine infektiöse Ergussursache, mittels Quantifizierung der Ergüsse besser überprüft werden. Es ist zudem möglich das im Thorax verbliebene Restvolumen mit der Formel zu

berechnen.

In den beiden einzigen Studien der Tiermedizin zur Quantifizierung von Pleuraergüssen an Katzen bzw. Hunden konnte keine allgemeingültige Formel zur Berechnung von Pleuraergussvolumina aufgestellt werden. Die jeweiligen sonographischen Messungen zeigten nur bei dem jeweils untersuchten Tier eine hohe Korrelation zu den punktierten Ergussvolumina [165, 166]. In der vorliegenden Arbeit wurde die Formel ebenfalls noch nicht prospektiv für weitere Paviane verifiziert. Dies soll Gegenstand zukünftiger Studien sein.

2. Qualitative Analyse von Pleuraergüssen

2.1. Einteilung der Pleuraergüsse anhand der verkürzten Light Kriterien

Die in der Humanmedizin häufig verwendeten Light Kriterien gelten immer noch als „Goldstandard“ für die Einteilung von Pleuraergüssen in Transsudat und Exsudat [119, 144, 180, 181]. In verschiedenen Studien wurden jedoch auch andere Grenzwerte oder Parameter zur Erkennung von Exsudaten und Transsudaten vorgeschlagen [117, 180, 182, 183]. Bis heute hat sich allerdings noch kein Kriterium den Light Kriterien als überlegen erwiesen.

Der von Light et al. initial vorgeschlagene LDH-Grenzwert von 200 U/L [114] wurde in einer späteren Studie zu mehr als 2/3 vom oberen Limit der normalen Serum LDH abgeändert [109].

In einigen tiermedizinischen Arbeiten wurden die Light Kriterien auch bei Hund und Katze angewandt [184, 185]. Hier mussten zuerst speziespezifische Cutoff-Werte für die Einteilung in Transsudate und Exsudate erstellt werden, da die humanmedizinischen Grenzwerte nicht übernommen werden konnten. Die Light Kriterien ordneten die Ergüsse in diesen Studien jedoch in 84% bzw. 98% der Fälle richtig zu [184, 186]. Somit scheint deren Anwendung in der Tiermedizin auch möglich zu sein.

Die Verwendung der klassischen Light Kriterien gestaltete sich in vorliegender Arbeit insofern als problematisch, da der hierbei verwendete LDH-Wert bei allen Pavianen sowohl im Serum als auch in der Pleuraflüssigkeit in den meisten Fällen deutlich oberhalb des humanen Grenzwertes lag. Aus diesem Grund konnten die für den Menschen bestimmten Cutoff-Werte für LDH im Pleuraerguss nicht verwendet werden. Ekser et al. bestimmten bei Pavianen als Normalwert für LDH im Serum einen Wert von 284 U/L [171]. Dieser Wert wurde aus den Mittelwerten verschiedener Studien an insgesamt 94 Tieren abgeleitet. Die meisten Serumwerte der in vorliegender Studie untersuchten Tiere lagen auch oberhalb dieses Grenzwertes. Da es zudem keinen oberen und unteren Referenzbereich für LDH im Serum beim Pavian gibt, konnte für die Pleuraergüsse auch nicht der Grenzwert der Light Kriterien von 2/3 des normalen oberen Limits des Serum-LDHs übertragen werden. Unter Verwendung der klassischen Light Kriterien müssten in der vorliegenden Arbeit alle Ergüsse, schon allein aufgrund der hohen LDH-Konzentrationen im Erguss, zur Kategorie Exsudat gezählt werden. Die Verwendung dieses Kriteriums schloss sich im vorliegenden Versuchsmodell

deshalb aus.

Stattdessen wurden die verkürzten Light Kriterien zur Kategorisierung der Pleuraergüsse genutzt. Diese beinhalten nicht den Absolutwert der LDH im Pleuraerguss, sondern die Quotienten von LDH und Protein. Laut Stanzel et al. erhöht die Nutzung von Quotienten die Sensitivität, wenn die Konzentration in der Pleura in Relation zur Konzentration im Serum gesetzt wird [113].

Die Verwendung von Paaren mit einer hohen Korrelation wie LDH und LDH-Quotient (Korrelationskoeffizient von 0,93) in einem Test bringt keinen Vorteil und die Paare sollten nicht gleichzeitig verwendet werden [117, 183]. Es gilt deshalb als legitim, einen dieser Parameter- in diesem Fall den LDH-Absolutwert- auszuschließen. Laut Heffner et al. und Porcel et al. ändert sich die diagnostische Genauigkeit dabei nicht [119, 183]. Die verkürzten Light Kriterien sind ähnlich akkurat wie die klassischen Light Kriterien, bringen laut Porcel et al. aber keine Vorteile, weil man für den LDH-Quotienten trotzdem die LDH im Erguss bestimmen muss [119, 183]. Demnach kann man bei der Verwendung einer Kombination von Protein- und LDH-Quotient nicht auf eine Thorakozentese verzichten. In der Humanmedizin mag dies nicht von Nutzen sein, da ein weiterer Parameter erhoben werden muss. In der vorliegenden Arbeit konnte dadurch der bei den Versuchstieren im Vergleich zum Menschen deutlich erhöhte LDH-Absolutwert als diagnostisches Kriterium vermieden werden.

2.2. Die Einteilung der Pleuraergüsse in Transsudat und Exsudat

Mit Hilfe der verkürzten Light Kriterien konnten die Pleuraergüsse in Exsudate und Transsudate eingeteilt werden, wobei die Ergussform Exsudat insgesamt am häufigsten vertreten war. Die Tiere 16861, 17186, 17482 und 17781 hatten über den gesamten Versuchsverlauf nur Exsudate, wohingegen Pavian 17492 als einziges Tier nur Transsudate hatte. Bei den Pavianen 17187, 17491, 17493 17494 und 17769 wechselten die Ergussformen während des Versuchsverlaufes.

Eine Kategorisierung von Pleuraergüssen in Exsudat und Transsudat ist wichtig und notwendig, um daraus auf die zugrunde liegende Erkrankung schließen zu können und dementsprechend richtig zu behandeln.

Liegt ein Transsudat vor, kann von einem systemischen Problem wie beispielsweise einer Herzinsuffizienz ausgegangen werden, was die Auswahl an Differentialdiagnosen einengt [109]. Demgegenüber weist ein exsudativer Erguss darauf hin, dass lokale Faktoren wie Entzündungsreaktionen des Herzens oder der

Pleura vorliegen. Es müssen dann weitere Tests durchgeführt werden, um die Ursache des Ergusses aufzuklären [109]. Die alleinige Einteilung in Exsudat und Transsudat konnte deshalb keine eindeutige Antwort auf die Frage nach der Herkunft der Pleuraergüsse geben. Eine multiple lineare Regressionsanalyse ergab jedoch, dass Tiere, die eine Kostimulationsblockade mit anti-CD40L PAS Fab, eine Infektion mit PCMV, eine ausgedehnte Thrombose, oder keine Wachstumshemmung (mit Temsirolimus und Antihypertensiva) hatten, signifikant höhere ETV aufwiesen. Es muss jedoch beachtet werden, dass die statistische Power dieses Tests aufgrund der geringen n-Zahl keine sehr hohe Aussagekraft besitzt.

Im Folgenden sollen deshalb mögliche Ursachen für die Entwicklung von Pleuraergüssen nach orthotoper kardialer Xenotransplantation diskutiert werden. Dabei werden nicht nur die Ergebnisse der qualitativen Analyse der Pleurapunkte berücksichtigt, sondern auch der Gesamtverlauf der Ergussbildung und die Untersuchung von Troponin T, NT-proBNP und IL-6 im Erguss und Serum. Außerdem soll die Frage diskutiert werden, ob die beobachteten Ergüsse in den Versuchen überhaupt von der Pleura stammen oder ein Ursprung vom Perikard des transplantierten Schweineherzens wahrscheinlicher ist. Somit hätten dann keine Pleuraergüsse vorgelegen, sondern Perikardergüsse.

3. Mögliche Ursachen der Pleuraergüsse

3.1. Einfluss der Operation auf die Bildung von Pleuraergüssen

3.1.1. Häufigkeit, Zeitpunkt und Art von Pleuraergüssen nach Herztransplantationen

Die Entwicklung von Pleuraergüssen ist eine der häufigsten Komplikationen nach orthotoper allogener Herztransplantation. Firat et al. berichten von 26,4%, Ulubay et al. von 38% und Misra et al. sogar von 85% der Patienten, die nach Herztransplantation einen Pleuraerguss entwickelten [72, 73, 187]. Die Ergüsse können sowohl als Früh- als auch als Spätkomplikation auftreten. Pleuraergüsse nach orthotoper kardialer Xenotransplantation können demnach, wie in der Humanmedizin, eine Begleitkomplikation der Operation sein. Eine erhöhte Mortalität der Patienten durch das Auftreten von Pleuraergüssen wurde in humanmedizinischen Studien allerdings nicht beobachtet; Komplikationen waren selten und die Ergüsse wurden meist spontan resorbiert [72, 73, 187]. In vorliegender Studie konnte bei nur drei Pavianen (17186, 17482 und 16701) eine Rückbildung der Ergüsse beobachtet werden. Im Gegensatz zu anderen Tieren, die diese Ergüsse zum Teil erst später entwickelten und einen chronischen Verlauf zeigten, hatten diese Tiere alle schon früh in der postoperativen Phase Pleuraergüsse. Sie mussten zudem selten punktiert werden und erreichten das Studienziel von 90 Tagen in gutem Allgemeinzustand. Pleuraergüsse, die sich früh nach kardialer Xenotransplantation entwickeln, scheinen eine bessere Prognose zu haben als solche, die sich spät entwickeln und dann „chronifizieren“.

Es gibt jedoch nur wenige Studien, in welchen Pleuraergüsse nach Herztransplantationen beim Menschen biochemisch untersucht und in Exsudat und Transsudat eingeteilt werden; in den wenigen existierenden Studien sind die Patientenkohorten sehr klein, weshalb die Aussagekraft geringer ist. In der Studie von Ulubay et al. hatten vier von zehn Patienten einen transsudativen, sechs einen exsudativen Erguss [75]. Die Exsudate waren Hämatothoraces, traten sekundär zu einer Infektion oder aufgrund eines Postperikardiotomie-Syndroms (PPS) auf. Auch bestimmte Immunsuppressiva, wie MMF, könnten laut den Autoren die Bildung von Pleuraergüssen begünstigen.

In einer Studie von Jain et al. wurden Pleuraergüsse nach Koronararterienbypass-Operation (CABG) mit denen nach Herztransplantation in den ersten 30

postoperativen Tagen verglichen [188]. Der Großteil der Ergüsse wurde als exsudativ klassifiziert: Nach Herztransplantation waren sechs von sieben Ergüssen Exsudate, nach CABG waren 28 von 32 Ergüssen Exsudate [188]. Als Ursache geben die Autoren ein PPS, aber auch den Einfluss der Antikoagulation während der Operation an. Die Zellpopulation in den Ergüssen war hauptsächlich geprägt von neutrophilen Granulozyten, was die Autoren auf die Depletion der Lymphozyten durch die Immunsuppression und eine bestehende Inflammationsreaktion der Zellen im Pleuraspalt zurückführen [187].

3.1.2. Das Postperikardiotomie-Syndrom (PPS)

Wie schon genannt, ist die Entstehung eines PPS im Zusammenhang mit dem Vorgehen während der Herzoperation ein weiterer möglicher Grund für das Auftreten von exsudativen Pleuraergüssen, zu denen es aber erst nach einer längeren Zeit (ca. einer postoperativen Woche) kommt [77, 109, 189]. Die Entstehung dieses Syndroms ist in der Humanmedizin noch nicht vollständig geklärt, wird aber mit dem Eröffnen des Perikards bei herzchirurgischen Operationen in Verbindung gebracht [77, 190]. Nach Schädigung von Herzmuskelgewebe kommt es zur Freilegung von Zielantigenen, welche die Produktion von Autoantikörpern anregen und zu einer Entzündungsreaktion im Pleura- und Perikard-Spalt führen. In der Folge entstehen Perikard- und/oder Pleuraergüsse [77, 189, 190]. Trotz Immunsuppression konnte sich PPS bei einer Gruppe von herztransplantierten Kindern in Begleitung mit Perikardergüssen entwickeln [145].

Die Tiere dieser Studie wurden zum Teil auf anti-Herz-Antikörper getestet. Es kam jedoch zu keinem aussagekräftigen Ergebnis (Daten nicht gezeigt). Dies könnte zum einen daran liegen, dass die Antikörper mit den beim Menschen üblichen Tests nicht nachgewiesen werden können oder zum anderen keine Antikörper vorhanden waren. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass im Zusammenhang mit kardialen Xenotransplantationsversuchen ein ähnliches Syndrom auftritt. Die Freilegung von Antigenen aus Herzmuskelgewebe während der Operation könnte im xenogenen Rahmen noch schwerwiegender Entzündungsreaktionen zur Folge haben als im allogenen System, da die Antigene von einer anderen Spezies (dem Schwein) stammen.

Weitere Studien sind erforderlich, um die Bedeutung solcher xenogenen

Entzündungsreaktionen besser verstehen zu können.

3.1.3. Postoperatives Management

Herzchirurgische klinische Eingriffe benötigen in der Regel den Einsatz der Herz-Lungen-Maschine und damit eine stark wirkende Antikoagulation mit Heparin. Das Resultat ist eine vermehrte Blutungsneigung nach diesen Eingriffen. In der Humanmedizin verbleiben Drainagen nach erfolgter Herztransplantation für mehrere postoperative Tage im Thorax, um Wundsekrete, Blut und auch Luft abzuleiten.

In den präklinischen kardialen Xenotransplantationsversuchen ist das Belassen von Thoraxdrainagen aufgrund mangelnder Compliance der Paviane nicht möglich. Die Tiere werden nach erfolgter Operation extubiert und in den Käfig gesetzt, in dem sie sich ohne Einschränkungen bewegen können. Die Thoraxdrainagen müssen zuvor, nach circa einer Stunde, entfernt werden. In der Humanmedizin ist ein Blutverlust über die Drainagen von < 500 ml in 10 Stunden nach der Operation normal. Blutungen mit den größten Volumina treten normalerweise innerhalb der ersten vier postoperativen Stunden auf [191]. Durch das frühe Entfernen der Thoraxdrainagen bei den Pavianen können Flüssigkeitsansammlungen vermutlich nur zu einem geringen Anteil drainiert werden. Dadurch wird die Entstehung früher Ergüsse nach den Operationen begünstigt, da Blut und Wundsekret nicht abgeleitet werden können und sich in der Thoraxhöhle ansammeln. Frühe Ergüsse bis zum 15. postoperativen Tag haben deshalb meistens einen höheren Anteil an Erythrozyten, als spätere Flüssigkeitsansammlungen [128].

Pleuraergüsse die in den ersten Tagen (bzw. bei Erstpunktion) nach der Transplantation drainiert werden mussten, waren in der Regel blutig tingiert. Die Tiere 17482 und 17493 hatten beispielsweise bei ihrer jeweils ersten Pleurapunktion am 22. bzw. 47. postoperativen Tag sehr hohe Erythrozytenkonzentrationen im Erguss. Beide Tiere erreichten das Studienziel und wurden bis zum 90. postoperativen Tag nur zweimal punktiert. Blutige Ergüsse im Sinne eines Hämatothorax sind exsudativer Natur [109].

Der wichtigste Grund für Ergüsse in den ersten Tagen ist somit eine Ansammlung von postoperativem Blut und Wundsekret, welches nicht vollständig resorbiert oder abgeleitet wurde.

3.2. Kardiale Ursachen

3.2.1. Kardiale Hypertrophie

Die Tiere 16048, 17139 und 17140 aus früheren Versuchen wurden weder mit antihypertensiven Medikamenten noch dem mTOR-Inhibitor Temsirolimus behandelt. Bei diesen Tieren kam es zur linksventrikulären Hypertrophie mit massiver konzentrischer Verdickung der Ventrikelwände und Zeichen einer dynamischen Obstruktion des linksventrikulären Ausflusstraktes [192]. Die Herzen wogen bei Versuchsende mehr als doppelt so viel als bei der Implantation. In der Histologie zeigten sich hypertrophierte Muskelzellen, kardiale Nekrosen, Thrombosen und Zellinfiltrationen. In der Summe wiesen diese Ergebnisse auf ein diastolisches Pumpversagen hin [31, 192]. Ein diastolisches Pumpversagen verursacht typischerweise transsudative Pleuraergüsse [183]. Die Ergüsse dieser drei genannten Tiere wurden nicht biochemisch aufgearbeitet, weshalb retrospektiv keine Einteilung in Transsudate oder Exsudate möglich war.

Da Paviane einen höheren Blutdruck (mittlerer arterieller Druck: 102 mmHg) als Schweine (59 mmHg) haben, wurden die restlichen Empfängertiere dieser Studie mit Enalapril und Metoprolol behandelt [31, 193]. So konnten der Blutdruck gesenkt und das Herzschwanzwachstum zusätzlich mit Temsirolimus, einem ubiquitären Wachstumshormonhemmer, eingedämmt werden. Tiere, die so behandelt wurden, hatten signifikant geringere Ergussstagesvolumina als die Paviane 17139, 16048 und 17140.

Die beiden Tiere (17491, 17493), welche über das Studienziel hinaus auf ca. sechs postoperative Monate verlängert wurden, zeigten trotz wachstumshemmender Behandlung nach dem 90. postoperativen Tag langsam zunehmendes Organwachstum und mussten dann häufiger punktiert werden. Die Wände des linken Ventrikels nahmen an Masse zu, während der Kammerdurchmesser in der Diastole annähernd gleich blieb [192]. Insbesondere bei Pavian 17491 waren gegen Ende des Versuchs zahlreiche Pleurapunktionen notwendig. Gründe für das langsame Organwachstum bei diesen beiden Tieren könnten beispielsweise ein prädeterminiertes physiologisches Wachstum des Schweineherzens sein, aber auch die für das Schwein unphysiologisch hohen Konzentrationen an Wachstumshormonen im Pavian [192].

3.2.2. Herzinsuffizienz und der kardiale Marker NT-proBNP

Kardiale Hypertrophie ist ein Vorbote einer beginnenden Herzinsuffizienz. Diese ist ein kompensatorischer Mechanismus, der als Reaktion auf eine Erhöhung des Arbeitsdruckes (wie beispielsweise bei Bluthochdruck) entsteht [194]. Menschen mit Herzinsuffizienz haben häufig transsudative Pleuraergüsse aufgrund eines erhöhten hydrostatischen Druckes [101, 109]. Dabei sind die NT-proBNP Konzentrationen in Punktat und Serum erhöht.

Die Serumwerte von NT-proBNP lagen im Mittel bei allen Tieren (mit Ausnahme von Pavian 17186 und 17482) oberhalb des humanen Grenzwertes (125 pg/ml). Postuliert man diesen Grenzwert für NT-proBNP auch für Paviane, so hätte bei all diesen Tieren eine Herzinsuffizienz vorgelegen. Auch eine NT-proBNP Konzentration im Pleuraerguss von über 1500 pg/ml gilt als beweisend für einen Erguss kardialer Ursache [109, 127, 130, 132]. Liegt das pleurale NT-proBNP dagegen unterhalb dieses Wertes, kann eine Herzinsuffizienz als Ergussursache ausgeschlossen werden [133]. Diese Werte sind jedoch nicht validiert. Bei drei der untersuchten Tiere lagen die NT-proBNP Werte oberhalb dieses Grenzwertes im Pleuraerguss (Tiere 16861, 17492 und 17769). Diese drei Paviane hatten auch im Serum die höchsten NT-proBNP Mittelwerte. Die Entstehung von Pleuraergüssen aufgrund einer Herzinsuffizienz wäre bei einigen Tieren also eine mögliche Erklärung. Dagegen spricht allerdings die weitestgehend exsudative Natur der Ergüsse; es sei denn, man geht von einer multifaktoriellen Genese der Ergüsse aus. So hatten zum Beispiel die Tiere 16861 und 17769 hohe NT-proBNP Werte im Pleuraerguss: Alle Ergüsse dieser beiden Tiere waren Exsudate. Bei diesen Tieren wurde eine humorale bzw. zelluläre Abstoßungsreaktion festgestellt. Avello et al. zeigten, dass es bei einer Abstoßungsreaktion zu einem merklichen Anstieg von NT-proBNP im Serum aufgrund von erhöhter Wandspannung und Volumenüberlastung des menschlichen Herzens kommt [195]. Ebenso lassen sich dabei zusätzlich Entzündungsreaktionen nachweisen. So könnte in diesem Fall NT-proBNP zwar wegen einer Herzinsuffizienz angestiegen sein, aufgrund der Entzündungsreaktionen aber ein exsudativer Erguss vorgelegen haben. Auf Abstoßungsreaktionen im Rahmen der vorliegenden Versuche soll später noch genauer eingegangen werden.

In der Tiermedizin gibt es neben der Einteilung von Pleuraergüssen in Transsudat und Exsudat auch die Klassifizierung als modifiziertes Transsudat. Dieses entsteht

aufgrund eines erhöhten hydrostatischen Druckes oder einer Obstruktion der Lymphgefäß [179]. Es enthält mehr Zellen und Proteine als das Transsudat und ähnelt deshalb mehr einem Exsudat. Verbleibt ein modifiziertes Transsudat länger in einer Körperhöhle, so kann es durch Chemotaxis aufgrund des Proteingehaltes und der Degeneration von Zellen zur Einwanderung von neutrophilen Granulozyten kommen. Das modifizierte Transsudat kann dadurch in ein nichtseptisches Exsudat übergehen [171, 179]. Ein ähnlicher Mechanismus könnte den exsudativen Charakter bei Tieren mit Herzinsuffizienz ebenfalls erklären.

3.3. Venöse Thrombosen und Chylothorax

Die Paviane 17187 und 17139 wiesen ausgeprägte venöse Thrombosen auf. In den pathologischen Untersuchungen wurden bei beiden Tieren Thrombosierungen der Venae jugulares internae rechts und links nachgewiesen. Bei Tier 17187 war zusätzlich die linke Vena subclavia okkludiert. Das Tier 17139 hatte auch Thromben in den Venae cavae cranialis und caudalis. Die Ergebnisse der multiple lineare Regressionsanalyse zeigten, dass die Entwicklung einer Thrombose einen Einfluss auf die Pleuraergussbildung und signifikant höhere ETV zur Folge hat.

Beim Menschen wird eine Okklusion der Vena cava cranialis oft mit dem Superior Vena Cava Syndrom in Verbindung gebracht [196]. Durch externe Kompression oder intrinsische Obstruktion der Vena cava kommt es dabei zu Schwellungen der Kopf- und Halsregion und der oberen Extremitäten. Oft entsteht das Syndrom bei malignen Tumoren des Mediastinums, aber auch bei intravaskulären Strukturen, wie zentralen Venenkathetern oder Schrittmacherdrähten. Rice et al. konnten zeigen, dass 66% der Patienten mit Superior Vena Cava Syndrom einen Pleuraerguss hatten; die Ergüsse waren zumeist Exsudate, häufig auch chylös zusammengesetzt [196].

Die venösen Dauerkatheter wurde in den Anfangszeiten der präklinischen Xenotransplantationsexperimente über die linke Vena jugularis in den rechten Vorhof gelegt. In diesem Bereich mündet auch der Ductus thoracicus, der dabei beeinträchtigt werden kann. Durch den Katheter kann es zu einer Behinderung des Lymphabflusses in das venöse System und im weiteren Verlauf zu einem Chylothorax kommen. In den folgenden Versuchen wurde diese Komplikation mit einer direkten Einleitung des venösen Dauerkatheters in den rechten Vorhof verhindert.

Die Hauptursache für die Entstehung eines Chylothorax bilden jedoch operativ

bedingte Verletzungen am Ductus thoracicus. Die Auswirkungen können auch noch Tage später auftreten [110]. Bei Tier 17187 wiesen die typischerweise veränderten Cholesterin- und Triglyceridwerte im Pleurapunktat auf einen Chylothorax hin.

Bei Tier 17139 war zudem die Vena cava cranialis thrombosiert. In tiermedizinischen Studien an Hunden, Katzen und Schafen konnte nachgewiesen werden, dass eine Thrombosierung der Vena cava cranialis auch zu einem Chylothorax führen kann [197, 198]. Dieser konnte bei diesem Tier jedoch nicht nachgewiesen werden.

Die pathologischen Untersuchungen konnten bei beiden Tieren pulmonale Embolien nachweisen, eine Folge der ausgedehnten venösen Thrombosierung. Laut klinischer Studien haben 20-55% der Patienten mit Lungenembolie einen Pleuraerguss [99]. Durch erhöhte Gefäßpermeabilität kommt es zur Leckage von Flüssigkeit aus dem Gefäß in das Lungeninterstitium und durch Überschreitung der Filtrationsleistung der lymphatischen Gefäße zum Pleuraerguss [199]. Ein solcher Mechanismus ist bei beiden Tieren ebenso denkbar.

3.4. Infektion und Inflammation und die Rolle von IL-6

Eine große Rolle in der Ursache von exsudativen Ergüssen spielen inflammatorische Prozesse. Im Rahmen einer kardialen Xenotransplantation sind dabei mehrere Ursachen für eine Inflammationsreaktion denkbar. Die Immunsuppression begünstigt das Auftreten von bakteriellen und viralen Infektionen sowie Mykosen. Unzureichende Immunsuppression wiederum kann zur Entwicklung einer xenogenen Inflammationsreaktion und im schlimmsten Fall zu Abstoßungsreaktionen führen [59]. Auch eine Herz-Lungen-Maschine kann Inflammationen auslösen [200-202].

Um die Rolle von Entzündungsprozessen in der vorliegenden Studie zu untersuchen, wurde der IL-6 Spiegel im Serum und Erguss betrachtet. IL-6 ist ein Zytokin, das von den Zellen des angeborenen Immunsystems produziert wird und eine wichtige Rolle bei diesen Prozessen spielt [137, 203]. Im Serum lagen die IL-6 Messwerte immer oberhalb des humanen Grenzwertes, im Pleuraerguss waren sie signifikant höher als im Serum.

In klinischen Untersuchungen von Xirouchaki et al. waren die IL-6 Werte in Serum und Erguss bei Exsudaten höher als bei Transsudaten [136]. Als Grund dafür geben die Autoren eine lokale Zytokinproduktion von proinflammatorischen Zellen im Pleuraspalt an, die sich dort anreichern [136]. Yokoyama et al. beschreiben zudem

eine höhere IL-6 Konzentration in Ergüssen als im Serum und eine signifikante Korrelation zwischen pleuralem und systemischen IL-6. Sie halten einen Übertritt von IL-6 aus dem Erguss in die systemische Zirkulation für denkbar [137].

Die auffällig hohe Diskrepanz zwischen den Serum- und Ergusswerten bei den Tieren dieser Studie legt eine lokale Produktion im Pleuraspalt nahe; dies könnte die hohen IL-6-Werte im Erguss bei den Pavianen erklären.

Entsprechend einer Studie beim Menschen wurden bei Pleuraergüssen aufgrund einer Tuberkulose die höchsten IL-6-Werte gemessen. Parapneumonische Ergüsse und maligne Pleuraergüsse wiesen ebenfalls hohe IL-6 Konzentrationen auf, wobei die IL-6 Konzentrationen bei malignen Ergüssen am niedrigsten waren [136]. Nach Pleuraergüssen aufgrund von Herzinsuffizienz sind Pneumonien die zweithäufigste Ursache von Pleuraergüssen: Ungefähr 40% dieser Patienten haben einen Pleuraerguss [109].

Pleuraergüsse aufgrund von Tumoren oder Tuberkulose können bei den Versuchstieren der vorliegenden Studie ausgeschlossen werden. Die Pleurapunkte der Paviane wurden regelmäßig mikrobiologisch untersucht. Aufgrund der Immunsuppression gelang jedoch nur selten ein Keimnachweis. Häufig wurde bei Verdacht auf eine bakterielle Infektion zuvor kalkuliert antibiotisch behandelt. Eine bakterielle Infektion mit Entwicklung einer Pleuritis oder Pneumonie kann als Ursache der Pleuraergussbildung in vorliegender Studie somit nicht ausgeschlossen werden.

Nicht zuletzt könnte die Gabe von Tocilizumab, welches alle Tiere dieser Studie erhielten, für erhöhte IL-6 Werte verantwortlich sein [204]. Tocilizumab supprimiert die T- und B-Zell Aktivierung und verhindert so, dass IL-6 an Geweben vom Empfängertier Pavian bindet, es verhindert allerdings nicht, dass es an das Schweine-Graft bindet [204]. Da die Rezeptoren im Empfängertier durch Tocilizumab blockiert sind, könnte dies einen Anstieg von IL-6 im Plasma begünstigen.

Um eine Herztransplantation durchführen zu können, ist es notwendig, zeitweise die Funktion von Empfängerherz und -lungen zu ersetzen. Dies geschieht mittels einer Herz-Lungen-Maschine. Der Kontakt des Blutes mit dem Schlauchsystem und dem Oxygenator, Ischämie-/Reperfusionschäden, die Aktivierung des Komplementsystems durch Heparin-Protamin Komplexe und chirurgische Traumata bedingen eine systemische Inflammation und damit einen signifikanten Anstieg von IL-6 [200-202]. Im Vergleich zu Allotransplantationen liegt es nahe,

dass eine solche Reaktion nach Xenotransplantationen von Schweineherzen heftiger ausfällt [204].

3.4.1. Systemic inflammation of xenograft recipients (SIXR)

Eine weitere Erklärung ist die nach Xenotransplantationen beschriebene SIXR-Reaktion. Hierbei kommt es zu ungeklärten Entzündungsreaktionen im Empfänger: Nach Transplantation von Schweineorganen zeigte sich ein sofortiger Anstieg von Inflammationsmarkern wie CRP, Serum Amyloid A und pro-inflammatorischen Zytokinen, wie dem schon erwähnten IL-6 [53, 204]. Zhang et al. brachten dies ebenso mit Gerinnungsstörungen in Verbindung, nachdem sie hohe IL-6 Konzentrationen nach der Transplantation von Schweinenieren in Paviane feststellten [203]. Sie sahen zudem einen Zusammenhang zwischen der Entstehung von SIXR und einem Graftversagen. Als Ursache von SIXR wird eine Reaktion auf das fremde Gewebe des Spenders im Empfängertier vermutet, der genaue Mechanismus ist jedoch noch nicht bekannt. Dieser Zustand scheint auch nicht nur eine Konsequenz der Operation zu sein, da die Inflammation für Wochen und Monate trotz Kostimulationsblockade und Kortikoiden anhalten kann [204].

3.4.2. Porzines Cytomegalievirus (PCMV)

Die sechs nachweislich mit PCMV infizierten Tiere hatten signifikant höhere ETV als die Tiere, bei denen das Virus nicht festgestellt werden konnte. Diese Tiere erreichten alle nicht das Studienziel von 90 Tagen.

PCMV ist eng verwandt mit den humanen Herpesviren 6 und 7. Diese Herpesviren können bei Xenotransplantationen übertragen und durch Immunsuppression reaktiviert werden. HHV-6 und HHV-7 sind, neben HCMV, bei allogenen Transplantatempfängern häufige Infektionen und werden auch mit Transplantatabstoßungen in Verbindung gebracht [69, 205].

PCMV hat eine hohe Prävalenz in Schweinebeständen und ist nach Infektionen lebenslang latent vorhanden. Bei Ferkeln kann es Rhinitis und Pneumonien auslösen, bei trächtigen Muttersauen kommt es zu Fruchtbarkeitsstörungen und Aborten. Es kann ebenso in immunsupprimierten Tieren reaktiviert werden [206]. Bei mit PCMV infizierten Pavianen zeigten die explantierten Schweineherzen die höchste Viruslast und waren gleichzeitig der Ort der höchsten Replikationsrate [69]. Aber auch in den übrigen Organen des Empfänger-Pavians konnte das Virus

nachgewiesen werden. Denner et al. vermuten, dass das Virus die Funktion des Herzens beeinträchtigt, wonach es zu einer Minderperfusion der übrigen Organe kommen kann [69]. Ein Multiorganversagen mit pathologischen Anstiegen von Leber,- Pankreas- und Nierenwerten ist die Folge; durch die Minderperfusion des Darms kommt es zum Durchtritt von Darmbakterien.

Eine Entstehung von Pleuraergüssen aufgrund einer durch das PCMV ausgelösten Inflammationsreaktion wäre bei den nachweislich infizierten Pavianen in dieser Studie denkbar. Die beiden Tiere 17494 und 17492 zeigten Anzeichen einer symptomatischen PCMV-Infektion (Multiorganversagen, Pankreatitis und Perikard-, sowie Pleuraergüsse).

Es ist jedoch nicht gesichert, dass PCMV wirklich in der Lage ist, Pavianzellen zu infizieren [64]. Cytomegalieviren sind hoch speziespezifisch und können sich normalerweise nur in diesen Zellen, oder einer eng verwandten Spezies replizieren [64].

Eine weitere Erklärung für das Auffinden von mit PCMV infizierten Zellen, bzw. dem Virusgenom in anderen Organen des Pavians wie dem Schweineherz, wäre die Möglichkeit des Mikrochimärismus. Dabei handelt es sich nicht um eine Infektion der Pavianzellen, sondern um zirkulierende infizierte Schweißzellen, die vom transplantierten Herzen stammen [207]. Dieses Phänomen wurde bereits in der Allotransplantation beschrieben; sogar nach Abstoßung des transplantierten Organs konnten Zellen des Donors noch im Körper des Empfängers nachgewiesen werden [207].

Ein weiteres Indiz für eine negative Auswirkung von PCMV durch das xenogene Transplantat auf den Empfänger ist die weltweit erste Transplantation eines Schweineherzens. Der Patient verstarb 60 Tage nach dem Eingriff [14]. Das Virus konnte im transplantierten Schweineherzen und im Blut des Empfängers nachgewiesen werden. Pleura- oder Perikardergüsse wurden in diesem Zusammenhang jedoch nicht erwähnt.

3.4.3. Wahl der Kostimulationsblockade und Graftabstoßung

Die Kostimulationsblockade ist essenziell, um zelluläre Abstoßungsreaktionen des Xenografts im Empfängertier zu verhindern [208-210].

Bei den Pavianen im vorliegenden Versuch wurde entweder ein (hochwirksamer) monoklonaler anti-CD40 AK oder ein humanisierter anti-CD40L PAS Fab

verwendet. Der anti-CD40 AK hatte in einer Studie von Mohiuddin et al. die besten Ergebnisse im abdominell-heterotopen kardialen Xenotransplantationsmodell (Langzeitüberleben von über zwei Jahren) erreicht [59]. Problematisch war jedoch, dass es sich dabei um einen chimären Maus/Rhesusaffen Antikörper handelte und er dadurch für den Einsatz im Menschen aufgrund von möglichen Immunreaktionen gegen den chimären Anteil des Antikörpers, nicht geeignet war [211].

Ein vielversprechender humanisierter CD40L-Antikörper wies aufgrund seines Fc-Teils thrombogene Eigenschaften auf, weshalb er für den späteren Einsatz beim Menschen ebenfalls nicht geeignet war [208]. Deshalb wurde ein eigener anti-CD40L PAS Fab hergestellt, dem dieser thrombogene Fc-Anteil fehlte [169].

Die Behandlung der Versuchstiere (16048, 16861, 16139, 17187, 17188, 17769, 17781) mit diesem anti-CD40L PAS Fab hatte, wie mit Hilfe der multiplen linearen Regression gezeigt, signifikant negative Auswirkungen auf das Ergusstagesvolumen und keines dieser Tiere erreichte das vorgesehene Studienziel. Die Paviane 17769 und 17781 hatten histologische Zeichen einer zellulären, Pavian 16861 zeigte Zeichen einer humoralen Abstoßung. Dies könnte bedeuten, dass die Kostimulationsblockade mit anti-CD40L PAS Fab im Vergleich zum anti-CD40 AK nicht ausreichend war, um die Bildung von Antikörpern gegen das Schweineorgan zu verhindern.

Die restlichen drei Tiere, die mit anti-CD40L PAS Fab behandelt wurden, wiesen keine Abstoßungsreaktion gegen das transplantierte Herz auf: Ein Tier musste jedoch nach elf Tagen aufgrund einer iatrogenen Komplikation euthanasiert werden. Bei den anderen führten verschiedene Gründe (Ductus thoracicus Okklusion und Katheter-Thrombosen) zum Abbruch der Versuche.

Nach Kenntnis der Autorin gibt es keine Studie, die eine Beziehung zwischen Abstoßungsreaktionen nach allogener Herztransplantation und dem Entstehen von Pleuraergüssen herstellt. Allerdings sind in der Humanmedizin Zusammenhänge zwischen Abstoßungsreaktionen nach Allotransplantation und der Entstehung von Perikardergüssen beobachtet worden. So diskutierten Vandenberg et al. immunmedierte Prozesse [82]. Eine Kombination von Cyclosporingabe, idiopathischer Kardiomyopathie und akuter Abstoßung korrelierte mit Perikardergüssen. Valantine et al. sahen eine Häufung von Perikardergüssen im Rahmen von akuten Abstoßungen [78]. Die Ergebnisse ihrer Studie ergaben außerdem, dass eine akute Abstoßung sowohl das Epikard wie auch das Perikard involviert. Ciliberto et al. sehen ebenfalls eine Korrelation zwischen Abstoßung und

Perikardergüssen [84]. Andere Autoren konnten in ihren Studien keinerlei Zusammenhang entdecken [79, 81, 85].

Die Beobachtung, dass Perikardergüsse in der Humanmedizin mit Abstoßungsreaktionen in Verbindung gebracht werden und dass Paviane mit anti-CD40L PAS Fab in der vorliegenden Studie signifikant höhere Ergusstagesvolumina aufwiesen, könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Ergüsse vom Herzen und nicht von der Pleura generiert werden. Im folgenden Abschnitt soll dies diskutiert werden.

4. Beweise für das Vorliegen von Perikardergüssen

Es gibt Indizien, dass die vorhandenen Ergüsse nicht aus der Pleura, sondern vom Perikard stammen. Während einer Herztransplantation bleibt der Herzbeutel längs geöffnet, ebenso die beiden Pleuren. So gibt es im Empfänger zwischen Perikard- und Pleurahöhle keine räumliche Trennung mehr. Ein Erguss, egal ob von der Pleura oder vom Perikard stammend, wird sich beim sitzenden Tier deshalb am tiefsten Punkt des Thorax sammeln, das heißt in den Pleurahöhlen. Allein aus der Tatsache, dass sich Ergussflüssigkeit dort sammelt, kann nicht auf deren Herkunft geschlossen werden. Des Weiteren sind Perikardergüsse nach orthotoper Herztransplantation beim Menschen ein häufig beobachtetes Phänomen: In 56% der Fälle treten sie schon früh nach der Transplantation auf [78].

Pavian 17492 stellte hierbei einen Sonderfall dar; echokardiographisch konnte man auch nach der Transplantation noch eine Trennung von Perikard und Pleura nachweisen, möglicherweise aufgrund einer unvollständigen Eröffnung und nachfolgender rascher Verklebungen an beiden Pleuren. Bei diesem Tier konnten deshalb sowohl Perikard- als auch Pleurapunktat separat gewonnen und untersucht werden.

4.1. Untersuchung der Laktatdehydrogenase (LDH)

Ben-Horin et al. und Imazio et al. untersuchten die Zusammensetzung von Perikardflüssigkeiten bei Patienten nach einer Herzoperation [103, 126]. Sie stellten dabei fest, dass die LDH-Werte in der Perikardflüssigkeit 2,4-fach [103] bzw. 1,1-fach [126] höher waren als die jeweiligen Konzentrationen im Blutserum. Die physiologische Perikardflüssigkeit aller Patienten wurde durch die Light Kriterien fälschlicherweise als Exsudat klassifiziert [103, 126].

Buoro et al. legten in einer Studie Grenzwerte für physiologische Perikardflüssigkeit beim Menschen fest: Proteinquotient = 0,29-0,83; LDH-Quotient = 0,4-2,99 und LDH = 141-2613 U/L [212]. Auch Cale-Subia et. al. wiesen auf die Notwendigkeit von anderen Cut-off Werten für Perikardflüssigkeiten hin [125]. Eine Anwendung der klassischen Light-Kriterien ist für die Kategorisierung von Perikardflüssigkeit in Exsudat und Transsudat daher nicht möglich.

Warum die LDH im Perikard erhöht ist, bleibt nicht vollständig geklärt: Eine erhöhte Permeabilität der Perikardgefäß, ausgelöst durch den mechanischen Stress

des schlagenden Herzens, könnte eine mögliche Ursache dafür sein. Ebenso könnten die Mesothelzellen durch diesen Stress zusätzlich LDH abgeben [212]. Geht man davon aus, dass die bei den Tieren beobachteten Ergüsse allein vom Perikard stammen, hätten nach Anwendung der Grenzwerte von Buoro et al. nur drei der Tiere einen pathologischen Perikarderguss (17186, 17492 und 17494). Die LDH der anderen Tiere läge im Bereich physiologischer Perikardflüssigkeit (unterhalb 2613 U/L.). Allerdings ist unklar, ob diese recht weit gefassten Referenzwerte beim Pavian grundsätzlich anwendbar sind.

Die rein transsudativen Pleuraergüsse von Pavian 17492 könnten darauf begründet sein, dass sich exsudative Ergüsse hauptsächlich im Perikard und nicht in der Pleura gesammelt haben.

4.2. Untersuchung des „N-terminal pro B-Type natriuretic peptide“ (NT-proBNP)

Einen weiteren Hinweis auf das mögliche Vorliegen von Perikardergüssen gibt die Messung von NT-proBNP. Das natriuretische Peptid BNP und dessen inaktives Signalpeptid NT-proBNP sind Marker für eine normale Funktion des Herzens. Sie sind bei akuter und chronischer Herzinsuffizienz im Serum und in der Pleura erhöht [129, 131], bei Patienten mit dekompensiertem Linksherzversagen sogar auf das Zehnfache im Vergleich zu Patienten mit Pleuraergüssen nichtkardialer Ursache [130, 131, 134].

In der vorliegenden Studie war NT-proBNP im Pleuraerguss signifikant höher als im Serum. Bei fast allen Tieren (außer Pavian 17482 und Pavian 17186) lag NT-proBNP im Serum über dem Grenzwert beim Menschen (125 pg/ml). In mehreren Studien konnte eine hohe Korrelation zwischen NT-proBNP im Serum und im Pleuraerguss gezeigt werden [130, 131, 134]. Die Autoren dieser Studien folgerten, dass es ausreichen würde, den Parameter entweder im Serum oder Pleuraerguss zu bestimmen, da sich der diagnostische Wert durch eine Doppelmessung von NT-proBNP nicht erhöhen würde [128]. Die Herkunft von NT-proBNP in der Pleuraflüssigkeit ist unklar, Zemans et al. vermuten allerdings aufgrund der geringen Größe des Peptides eine Diffusion aus dem Serum in den Pleuraspalt [213]. Interessanterweise waren bei den Versuchstieren der vorliegenden Arbeit signifikant höhere NT-proBNP Werte im Pleuraerguss als im Serum zu finden. Eine Diffusion aus dem Serum allein ist unwahrscheinlich, vielmehr liegt eine zusätzliche Sekretion aus dem Herzen bzw. dem Perikard nahe.

Es ist unklar, wie natriuretische Peptide in den Perikardspalt gelangen. Sie werden von den Myozyten der Ventrikel und/oder der Atrien bei Dehnungsreizen sezerniert [214]. Der größte Teil geht in den Blutkreislauf über, um dort als systemische Hormone zu wirken. Ein weiterer Teil wird vermutlich in das kardiale Gewebe und von dort in den Perikardspalt sezerniert.

Außerdem sind natriuretische Peptide an der Regulation der Herztätigkeit durch parakrine Mechanismen beteiligt. Sie regulieren mitunter das Wachstum von Fibroblasten bei kardialer Hypertrophie und Herzversagen [215-218].

In einer Studie von Watanabe et al. wurden höhere Werte an natriuretischen Peptiden in der Perikardflüssigkeit als im Serum gemessen [215]. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Bemerkenswert sind in diesem Zusammenhang die NT-proBNP-Werte bei Tier 17492, die im Perikarderguss im Mittel niedriger waren als im Pleuraerguss. Wie bereits erwähnt, lagen bei diesem Tier getrennte Pleura- und Perikardergüsse vor. Der Perikarderguss umschloss jedoch das Herz nicht zirkumferent, sondern lag fast ausschließlich dem linken Ventrikel an. NT-proBNP wird beim Gesunden überwiegend in den Vorhöfen gebildet; nur beim insuffizienten Herzen verschiebt sich die Produktion in Richtung Ventrikel [219]. Somit ist es möglich, dass NT-proBNP primär in die den Vorhöfen anliegenden Pleuraergüsse sezerniert wurde, weshalb dort höhere Spiegel gemessen wurden als im Perikarderguss.

4.3. Untersuchung von Troponin T high-sensitiv

Neben LDH und NT-proBNP wurde auch Troponin T im Pleurapunktat und im Serum untersucht. Troponin T war im Pleuraerguss bei allen Tieren signifikant höher als im Serum. Die Serumkonzentrationen lagen zudem bei allen Tieren weit über dem Grenzwert der Humanmedizin ($\leq 0,014 \text{ ng/m}$). Im untersuchten Perikarderguss von Tier 17492 war Troponin T ebenfalls signifikant höher als in dessen Seren. Zudem gibt es, soweit bekannt, keinerlei Studien beim Menschen oder Tier über erhöhte Troponinwerte in Pleuraergüssen.

Troponin T wird als spezifischer kardialer Biomarker bei Herzmuskelnekrose von toten Herzmuskelzellen abgegeben und wird unter anderem zur Diagnose von akutem Myokardinfarkt benutzt [141]. Durch die Untersuchung von postmortal gewonnener Perikardflüssigkeit beim Menschen konnte gezeigt werden, dass die Troponin T Konzentration in der nach dem Tod entnommenen Perikardflüssigkeit 10-fach höher als das Troponin T im postmortalen Serum war [141, 220]. Die

Erhöhung der Troponin T Konzentrationen in beiden Proben könnte auch einen Rückschluss auf das Ausmaß der Myokardschädigung zulassen [220]. Die Autoren gehen davon aus, dass die Perikardflüssigkeit direkt von Schädigungen und Läsionen des Herzens betroffen ist [141]. Eine Erklärung für die hohe Troponin T Konzentration in der Perikardflüssigkeit ist die Nähe zum Myokard und ein direkter Abfluss in das Perikard [141, 220, 221]. Osuna et al. postulieren ebenfalls, dass biochemische Marker, wie das Troponin T durch passive Diffusion und Ultrafiltration aufgrund des Druckgradienten in die Perikardflüssigkeit abfließen und dort noch vor einem Nachweis im Serum bestimmbar sind [143]. Jedoch stellt sich die Frage, ob die postmortale Erhebung von biochemischen Markern einen Vergleich mit einer Erhebung *in vivo* zulässt. González-Herrera et al. weisen darauf hin, dass Troponin T für einen ungefähren Zeitraum von 34 Stunden nach dem Tod stabil bleibt [141]. Aus diesem Grund könnten diese Erkenntnisse auch eine Aussage über die Troponin T Konzentrationen im lebenden Organismus zulassen. Tier 17492 hatte signifikant höhere Troponinkonzentrationen im Perikarderguss als im Serum. Die anderen Tiere dieser Studie hatten signifikant höhere Troponinkonzentrationen in den Ergusspunktaten als im Serum. Zusammen mit den Erkenntnissen aus den oben genannten humanmedizinischen Studien weist dies darauf hin, dass bei den Pavianen dieser Studie statt einem Pleuraerguss eigentlich ein Perikarderguss vorlag.

5. Schlussfolgerung und Ausblick

Die in dieser Arbeit aufgestellte Formel eignet sich zur Abschätzung von Pleuraergüssen mittels Ultraschallmessung beim Pavian. Zur Validierung wäre es sinnvoll, diese prospektiv bei Tieren mit Pleuraerguss zu testen und das Volumen vor Thorakozentese zu berechnen. Im Anschluss können dann berechnetes und abgezogenes Volumen verglichen werden.

Die Entscheidung, wie ein Erguss behandelt wird, hängt immer von der Art des Ergusses und in der Folge von der zugrunde liegenden Erkrankung ab. In vorliegender Arbeit wurden die qualitative Ergussdiagnostik und Einteilung in Exsudat und Transsudat aufgrund fehlender Normwerte von laborchemischen Parametern beim Pavian erschwert. Speziesspezifische Cut-off Werte analog zu den klassischen Light Kriterien wären hilfreich und könnten Bestandteil zukünftiger Studien sein. Auch im Hinblick auf die wahre Herkunft der Ergüsse (Pleura oder Perikard) ist die hier vorgenommene Einteilung mit Hilfe der verkürzten Light Kriterien unter Umständen nicht die richtige Methode. Da es aber auch in der Humanmedizin zur Einteilung von Perikardergüssen in Exsudat und Transsudat noch keine validierte Methode gibt, kann die durchgeführte Einteilung erste Hinweise liefern.

Die Ursachen der Ergüsse in dieser Studie sind vermutlich multifaktoriell. Die Ergebnisse der multiplen linearen Regressionsanalyse legen nahe, dass wichtige Rollen bei der Entwicklung von Ergüssen die Art der Kostimulationsblockade, eine Infektion mit PCMV, das Vorliegen von ausgedehnten venösen Thrombosen sowie eine fehlende Behandlung des überschießenden Wachstums der porzinen Spenderorgane spielen. Einige dieser Ursachen konnten im Verlauf der kardialen Xenotransplantationsstudien bereits vermieden werden.

Die Verwendung des anti-CD40L PAS Fab zur Kostimulationsblockade führte in vorliegender Studie zu höheren Ergusstagesvolumina, zudem erreichte keines der Tiere das Studienziel. Eine unzureichende Wirkung dieses Antikörpers scheint naheliegend. Um Infektionen der Spendertiere mit PCMV zu verhindern, wurden die Ferkel früh von der Muttersau abgesetzt und vor Transplantation regelmäßig auf das Virus untersucht. So konnten Infektionen der Spendertiere mit PCMV im weiteren Verlauf der Versuche vermieden werden. In Zukunft sollen die Schweine unter designiert pathogen-freien Bedingungen gehalten und eine Zucht PCMV-freier Tiere aufgebaut werden. Durch den zentralen Venenkatheter ausgelöste

Thrombosen konnten vermieden werden, indem dieser standardmäßig direkt im rechten Vorhof platziert wurde. Überschießendes Myokardwachstum konnte bei den meisten Tieren der Studie durch die Gabe von Antihypertensiva und Temsirolimus nur bis zu einem gewissen Grad eingedämmt werden, da Organwachstum genetisch vorbestimmt ist und mit dem Körpergewicht korreliert. Die transplantierten Herzen stammten von juvenilen Schweinen der deutschen Landrasse, die sich noch im Wachstum befanden und schnell an Gewicht und Körpergröße zunahmen. Dadurch zeigten auch die Herzen in den Langzeitversuchen trotz medikamentöser Behandlung Organwachstum. Eine vielversprechende Alternative stellt deshalb der Einsatz von kleinwüchsigen, langsamer wachsenden Schweinerassen wie beispielsweise Auckland-Island Schweinen dar, deren Herzgröße auch im Hinblick auf den späteren Einsatz im Menschen gut geeignet wäre.

Zur Kontrolle von systemischen Inflammationsreaktionen wie SIXR könnten zukünftig weitere genetische Modifikationen der Schweine hilfreich sein.

Um die Hypothese zu beweisen, dass die Ergüsse im Rahmen des präklinischen kardialen Xenotransplantationsmodells vom Herzen stammen und Perikardergüsse waren, müssen weitere Untersuchungen angestrebt werden. Ist die Herkunft geklärt, können gezielte Maßnahmen dagegen unternommen werden. Dies ist insbesondere auch für zukünftige klinische Studien am Menschen wichtig.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Der Mangel an Spenderherzen ist in Deutschland und weltweit gravierend. Es gibt insgesamt viel zu wenige Organspender, um den hohen Bedarf an Organen zu decken. Alternativen, wie der Einsatz von „Mechanical Assist Devices“, können eine allogene Herztransplantation nicht ersetzen. Sie gilt bis heute als therapeutischer Goldstandard für Patienten mit terminalem Herzversagen.

Die Xenotransplantation, die Transplantation von Organen einer anderen Spezies in den Menschen, kann dem Organmangel entgegenwirken. Dabei hat sich das Schwein als geeignetes Spendertier durchgesetzt. Genetische Modifikationen und angepasste immunsuppressive Medikamentenregime konnten Abstoßungsreaktionen nach orthotoper Xenotransplantation verhindern und dabei helfen, ein Überleben der Tiere von bis zu 6 Monaten zu erzielen.

Wie nach allogenen Eingriffen können auch nach kardialen orthotopen Xenotransplantationen verschiedenste Komplikationen in der postoperativen Phase auftreten; Pleura- und Perikardergüsse sind hierbei nicht selten.

In vorliegender Arbeit sollte mittels sonographischer Messungen eine Formel zur quantitativen Berechnung von Pleuraergussvolumina erstellt werden. Dabei wurden retrospektiv Pleuraergüsse bei acht von fünfzehn untersuchten Pavianen in der postoperativen Phase mittels sonographischer Messungen bestimmt ($n = 53$). Die Messung der maximalen Ergusshöhe (H_{max}) zwischen Lunge und Zwerchfell ergab eine sehr hohe Korrelation ($r = 0,8809$) mit den Pleurapunktaten. Die lineare Regressionsanalyse von H_{max} mit den Ergusseinzelvolumina (EEV) lieferte die Formel zur Berechnung von Pleuraergüssen beim Pavian: $EEV [ml] = 7,9 \times H_{max} - 8,9$.

Die qualitative Untersuchung der Pleuraergüsse stellte einen weiteren wichtigen Punkt dieser Doktorarbeit dar. Mit Hilfe der verkürzten Light Kriterien (LDH- und Proteinquotient) wurden die Punktate von 10 Pavianen in Exsudate und Transsudate eingeteilt. Vier Tiere hatten bei allen Punktationen exsudative Ergüsse, ein Tier hatte nur transsudative Ergüsse. Dieses Tier hatte zudem isolierte Perikard- und Pleuraergüsse. Bei den restlichen fünf Tieren wechselte die Ergussform während des Versuchsverlaufs. Zusätzlich zu den Parametern für diese Einteilung wurden die biochemischen Parameter Troponin T high-sensitiv, NT-proBNP und IL-6 im Serum und im Erguss untersucht.

Basierend auf den Ergebnissen der qualitativen Untersuchungen und des Verlaufs der Pleuraergussentwicklung wurde nach möglichen Erklärungen für die Entstehung der Ergüsse nach orthotoper kardialer Xenotransplantation gesucht. Die Ursache ist am ehesten multifaktoriell: Neben dem Einfluss der Operation spielen kardiale Ursachen wie Herzwachstum und Herzinsuffizienz, die Entstehung von ausgedehnten venösen Thrombosen und Infektion sowie Inflammation eine Rolle. Aufgrund der Auflösung der Trennung zwischen Pleura- und Perikardhöhle nach der Operation ist die Herkunft der Ergüsse nicht eindeutig bestimmbar. Vorliegende Arbeit hat wertvolle Hinweise geliefert, dass die Ergüsse nicht von der Pleura stammen, sondern vom Perikard. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Herkunft der Ergüsse eindeutig zu klären.

VIII. SUMMARY

Examination of thoracic effusions after preclinical orthotopic cardiac xenotransplantation

The shortage of donor hearts in Germany and world-wide is severe. There are far too few organ donors overall to meet the high demands. Alternatives, such as the use of "mechanical assist devices" cannot replace allogeneic heart transplantation - which is still considered the gold standard for patients in terminal heart failure.

Xenotransplantation, the transplantation of organs from another species into humans, aims to compensate the organ shortage. The pig has emerged as a suitable donor animal. Genetic modifications and adapted immunosuppressive drug regimens prevented rejection reactions after orthotopic xenotransplantation and helped to achieve survival of up to 6 months in the animals.

Just as with allogeneic heart transplants, various complications can occur in the postoperative course following cardiac orthotopic xenotransplantations. In this context, pleural and pericardial effusions are not unusual.

In the present study, a formula for the quantitative calculation of pleural effusion volumes was established through various sonographic investigations. Retrospectively, pleural effusions ($n = 53$) were measured using sonography in eight out of fifteen examined baboons during the postoperative phase. The measurements of the maximum effusion height (H_{max}) between the lung and diaphragm showed a high correlation with the pleural punctures ($r = 0.8809$). A linear regression analysis of H_{max} with the individual effusion volumes (EEV) yielded the formula for calculating pleural effusion volumes in baboons: $EEV [ml] = 7.9 \times H_{max} - 8.9$.

The qualitative investigation of pleural effusions represented another important aspect of this doctoral thesis. Using the abbreviated Light criteria (LDH- and protein quotient), aspirates from 10 baboons were classified as exudates or transudates. Four animals had exudative effusions in all aspirates, while one animal had only transudative effusions. This animal also had isolated pericardial and pleural effusions. In the remaining five animals, the effusion type changed during the course of the experiment.

In addition, biochemical parameters like high sensitive troponin T, NT-proBNP and IL-6 were collected in both the serum and effusions.

Based on the results of the qualitative investigations and the course of pleural effusion development, possible explanations for the occurrence of effusions after orthotopic cardiac xenotransplantation were sought.

The cause is most likely multifactorial: in addition to the influence of the surgery, cardiac causes such as myocardial hypertrophy and heart failure, the development of extensive venous thrombosis, as well as inflammatory and infectious processes play a role.

Due to the resolution of the separation between the pleural and pericardial cavities after surgery, the origin of the effusions cannot be clearly determined. The present study has provided valuable evidence suggesting that the effusions do not originate from the pleura but from the pericardium. Further investigations are needed to definitively clarify the origin of the effusions.

IX. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACR	Acute cellular rejection (akute zelluläre Abstoßung)
ACT	Activated clotting time (aktivierte Gerinnungszeit)
AF	Atemfrequenz
AHXR	Acute humoral rejection (akute humorale Abstoßung)
AK	Antikörper
BGA	Blutgasanalyse
BiVAD	biventricular assist device
BNP	brain natriuretic peptide
BZgA	Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung
bzw.	beziehungsweise
CABG	Koronararterienbypass-Operation
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CRP	C-reaktives Protein
d	day (Tag)
DSO	Deutsche Stiftung für Organspende
EEV	Ergusseinzelvolumen
EGV	Ergussgesamtvolumen
EKG	Elektrokardiogramm
ETV	Ergusstagesvolumen
HAR	Hyperacute rejection (hyperakute Abstoßung)
hCMV	Humanes Cytomegalievirus
HERV	Humanes endogenes Retrovirus
HF	Herzfrequenz
HHV	Humanes Herpesvirus
hTM	Humanes Thrombomodulin
IL- 6	Interleukin- 6
KGW	Körpergewicht
KI	Konfidenzintervall
KO	Knockout
KOF	Körperoberfläche
LDH	Lactatdehydrogenase
LVAD	left ventricular assist device
MHC	Major histocompatibility complex
MMF	Mycophenolat Mofetil
MW	Mittelwert
NHP	non-human primate, nichtmenschlicher primat
NK	Natürliche Killerzellen
ns	nicht signifikant
NSAID	Nicht steroidale Antirheumatika
NT-proBNP	N-terminal pro B-Type natriuretic peptide
PCMV	Porzines Cytomegalievirus
PCR	Polymerase chain reaction
PCV	Porzines Circovirus
PE	Pleuraerguss
PERV	Porzines endogenes Retrovirus
POD	postoperative day

PPS	Postperikardiotomie-Syndrom
SD	Standardabweichung
SIXR	systemic inflammation of xenograft recipients
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
v.a.	vor allem
z.B..	zum Beispiel
ZVK	Zentralvenöser Katheter
α -1,3-Gal	Galactose- α -1,3-Galactose

X. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Überblick der Xenotransplantationen am Organ Herz von 1964-1996</i>	7
<i>Tabelle 2: Vor- und Nachteile des Schweines als Organspender</i>	14
<i>Tabelle 3: Ursachen von Perikardergüssen</i>	29
<i>Tabelle 4: Differenzialdiagnosen für Transsudate und Exsudate bei Pleuraergüssen</i>	30
<i>Tabelle 5: Mögliche Diagnosen von Pleuraergüssen anhand ihres charakteristischen Aussehens</i>	33
<i>Tabelle 6: Einteilung von Exsudat und Transsudat nach den Light Kriterien</i>	34
<i>Tabelle 7: Auswahl an Gleichungen für die sonographische Einschätzung von Pleuraergüssen im Sitzen</i>	48
<i>Tabelle 8: Übersicht über die untersuchten Paviane</i>	57
<i>Tabelle 9: Übersicht über die durchgeführten Untersuchungen bei den einzelnen Pavianen</i>	58
<i>Tabelle 10: Darstellung der Mittelwerte mit Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n) von LDH in Pleuraerguss und Serum</i>	68
<i>Tabelle 11: Darstellung der Mittelwerte mit Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n) von Protein in Pleuraerguss und Serum</i>	70
<i>Tabelle 12: Darstellung von Mittelwert, Standardabweichung und Anzahl der Messungen (n) des LDH-Quotienten und des Proteinquotienten bei den einzelnen Pavianen</i>	72
<i>Tabelle 13: Mittelwerte von NT-proBNP in Pleuraerguss und Serum</i>	77
<i>Tabelle 14: Mittelwerte von Troponin T in Pleuraerguss und Serum</i>	79
<i>Tabelle 15: Mittelwerte von IL-6 in Pleuraerguss und Serum</i>	81
<i>Tabelle 16: Gemessene LDH- und Proteinwerte in Serum und Perikarderguss. POD= postoperative day (postoperativer Tag)</i>	83
<i>Tabelle 17: Troponin T, NT-proBNP und IL-6 von Pavian 17492 in Serum, Perikarderguss und Pleuraerguss</i>	84
<i>Tabelle 18: Übersicht über die Pleuraergussvolumina bei den 15 Pavianen</i>	86
<i>Tabelle 19: Übersicht über die Verteilung der Referenzkategorien für die multiple lineare Regressionsanalyse bei den 15 Pavianen</i>	89
<i>Tabelle 20: Liste der verwendeten Medikamente</i>	146
<i>Tabelle 21: Übersicht über die verwendeten Verbrauchsmaterialien</i>	147

<i>Tabelle 22: Umfassende Ergebnisse der Ergussdiagnostik:.....</i>	151
<i>Tabelle 23: Körperoberfläche (KOF) von allen 15 Tieren.....</i>	152

XI. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Postmortale Organspender in den Jahren 2013-2022 in Deutschland</i>	2
<i>Abbildung 2: Herztransplantationen und Neuanmeldungen auf die Warteliste</i>	3
<i>Abbildung 3: Schematischer Aufbau der Brusthöhle</i>	21
<i>Abbildung 4: Physiologische Bewegungen der Pleuraflüssigkeit.....</i>	24
<i>Abbildung 5: Aufnahme des linken Ventrikels im M-Mode</i>	44
<i>Abbildung 6: Aufnahme des Thorax im B-Mode.....</i>	44
<i>Abbildung 7: Pleuraerguss mit Fibrinverklebungen.....</i>	46
<i>Abbildung 8: Schematische Darstellung der Messstrecken aus Tabelle 7</i>	49
<i>Abbildung 9: Messung der maximalen Ergusshöhe (H_{max}).....</i>	61
<i>Abbildung 10: Messmethode bei unvollständiger Drainage mit Restvolumen</i>	62
<i>Abbildung 11: Lineare Regressionsanalyse der maximalen Ergusshöhe H_{max} und dem Ergusseinzelvolumen</i>	67
<i>Abbildung 12: LDH im Pleuraerguss und Serum</i>	69
<i>Abbildung 13: Protein im Pleuraerguss und Serum</i>	71
<i>Abbildung 14: LDH-Quotient</i>	73
<i>Abbildung 15: Proteinquotient.....</i>	74
<i>Abbildung 16: Darstellung der Einteilung der Pleuraergüsse in Exsudat (schwarze Punkte) und Transsudat (weiße Quadrate) an den jeweiligen postoperativen Tagen.</i>	75
<i>Abbildung 17: Chylothorax bei Tier 17187</i>	76
<i>Abbildung 18: NT-proBNP in Serum und Pleuraerguss.....</i>	78
<i>Abbildung 19: Troponin T Konzentration in Serum und Pleuraerguss</i>	80
<i>Abbildung 20: Interleukin-6 Konzentrationen in Serum und Pleuraerguss</i>	82
<i>Abbildung 21: Ultraschallbild von Pleura- und Perikarderguss von Pavian 17492</i>	83
<i>Abbildung 22: Troponin T (A), NT-proBNP (B) und Il-6 (C) in Serum (rot), Perikarderguss (grün) und Pleuraerguss (blau) von Pavian 17492.....</i>	84
<i>Abbildung 23: Echokardiographische Aufnahmen des linken Ventrikels von Pavian 17493</i>	87
<i>Abbildung 24: Pleuraergussentwicklung über den Versuchszeitraum</i>	88

XII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO). *Jahresbericht 2022*. 2023 Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://dso.de/organspende/statistiken-berichte/jahresbericht>.
2. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO). *Postmortale Organspender*. 2023 Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://dso.de/DSO-Infografiken/Organspender.png>.
3. Zimmerling, R., Hammes, D., *Bericht zur Repräsentativstudie 2022 „Wissen, Einstellung und Verhalten der Allgemeinbevölkerung zur Organ- und Gewebespende“*. BZgA-Forschungsbericht. Köln: Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung(BZgA), 2023.
4. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO). *Herz-Anmeldungen und Transplantation*. 2023 Access Date: 05.02.2024]; Available from: https://dso.de/DSO-Infografiken/HerzTX_Anmeldung.png.
5. Saeed, D., et al., *The 2023 International Society for Heart and Lung Transplantation Guidelines for Mechanical Circulatory Support: A 10- Year Update*. J Heart Lung Transplant, 2023. **42**(7): p. e1-e222.
6. Miller, L., et al., *Use of Ventricular Assist Devices and Heart Transplantation for Advanced Heart Failure*. Circulation Research, 2019. **124**(11): p. 1658-1678.
7. Mehra, M.R., et al., *A Fully Magnetically Levitated Circulatory Pump for Advanced Heart Failure*. New England Journal of Medicine, 2016. **376**(5): p. 440-450.
8. Colvin, M., et al., *OPTN/SRTR 2016 Annual Data Report: Heart*. American Journal of Transplantation, 2018. **18**: p. 291-362.
9. Khush, K.K., et al., *The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fifth Adult Heart Transplantation Report-2018; Focus Theme: Multiorgan Transplantation*. J Heart Lung Transplant, 2018. **37**(10): p. 1155-1168.
10. Kormos, R.L., et al., *The Society of Thoracic Surgeons Intermacs database annual report: Evolving indications, outcomes, and scientific partnerships*. J Heart Lung Transplant, 2019. **38**(2): p. 114-126.
11. Cleveland, J.C., Jr., et al., *Survival after biventricular assist device*

- implantation: an analysis of the Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support database.* J Heart Lung Transplant, 2011. **30**(8): p. 862-9.
12. Noor, N., et al., *3D Printing of Personalized Thick and Perfusionable Cardiac Patches and Hearts.* Advanced Science, 2019. **6**(11): p. 1900344.
13. Kotz D. Seiler B. *UM Medicine Faculty-Scientists and Clinicians Perform Second Historic Transplant of Pig Heart into Patient with End-Stage Cardiovascular Disease.* 2023 Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://www.umms.org/ummcc/news/2023/um-medicine-clinicians-perform-second-historic-transplant-of-pig-heart-into-patient>.
14. Griffith, B.P., et al., *Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation.* N Engl J Med, 2022. **387**(1): p. 35-44.
15. Nadia Kounang CNN. *Second person to receive experimental pig heart transplant dies nearly six weeks after procedure.* 2023 Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://edition.cnn.com/2023/10/31/health/lawrence-faucette-second-pig-heart-transplant-dies/index.html>.
16. Fishman, J.A., L. Scobie, and Y. Takeuchi, *Xenotransplantation-associated infectious risk: a WHO consultation.* Xenotransplantation, 2012. **19**(2): p. 72-81.
17. Deschamps, J.Y., et al., *History of xenotransplantation.* Xenotransplantation, 2005. **12**(2): p. 91-109.
18. Cooper, D.K., *A brief history of cross-species organ transplantation.* Proc (Bayl Univ Med Cent), 2012. **25**(1): p. 49-57.
19. Hara, H. and D.K. Cooper, *Xenotransplantation--the future of corneal transplantation?* Cornea, 2011. **30**(4): p. 371-8.
20. Sade, R.M., *Transplantation at 100 years: Alexis Carrel, pioneer surgeon.* Ann Thorac Surg, 2005. **80**(6): p. 2415-8.
21. Hardy, J.D., et al., *HEART TRANSPLANTATION IN MAN. DEVELOPMENTAL STUDIES AND REPORT OF A CASE.* Jama, 1964. **188**: p. 1132-40.
22. Cooley, D.A., et al., *Human heart transplantation. Experience with twelve cases.* Am J Cardiol, 1968. **22**(6): p. 804-10.
23. Barnard, C.N., A. Wolpowitz, and J.G. Losman, *Heterotopic cardiac transplantation with a xenograft for assistance of the left heart in cardiogenic shock after cardiopulmonary bypass.* S Afr Med J, 1977. **52**(26): p. 1035-8.
24. Bailey, L.L., et al., *Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate.* Jama, 1985. **254**(23): p. 3321-9.

25. Czaplicki, J., B. Blońska, and Z. Religa, *The lack of hyperacute xenogeneic heart transplant rejection in a human*. J Heart Lung Transplant, 1992. **11**(2 Pt 1): p. 393-7.
26. Jayaraman, K.S., *Pig heart transplant surgeon held in jail*. Nature, 1997. **385**(6615): p. 378.
27. Post, W., *Baby Fae*, in *Washington Post*. 1984.
28. Reichenspurner, H., et al., *Optimization of immunosuppression after xenogeneic heart transplantation in primates*. The Journal of heart transplantation, 1989. **8**(3): p. 200-7; discussion 207.
29. Cooper, D.K., *Frankenswine, or bringing home the bacon: How close are we to clinical trials in xenotransplantation?* Organogenesis, 2008. **4**(1): p. 1-10.
30. Cooper, D.K., et al., *Report of the Xenotransplantation Advisory Committee of the International Society for Heart and Lung Transplantation: the present status of xenotransplantation and its potential role in the treatment of end-stage cardiac and pulmonary diseases*. J Heart Lung Transplant, 2000. **19**(12): p. 1125-65.
31. Längin, M., et al., *Consistent success in life-supporting porcine cardiac xenotransplantation*. Nature, 2018. **564**(7736): p. 430-433.
32. Mohiuddin, M.M., et al., *Progressive genetic modifications of porcine cardiac xenografts extend survival to 9 months*. Xenotransplantation, 2022. **29**(3): p. e12744.
33. Cooper, D.K., B. Gollackner, and D.H. Sachs, *Will the pig solve the transplantation backlog?* Annu Rev Med, 2002. **53**: p. 133-47.
34. Lu, T., et al., *Xenotransplantation: Current Status in Preclinical Research*. Frontiers in Immunology, 2020. **10**(3060).
35. Cooper, D.K.C., B. Ekser, and A.J. Tector, *Immunobiological barriers to xenotransplantation*. Int J Surg, 2015. **23**(Pt B): p. 211-216.
36. Phelps, C.J., et al., *Production of alpha 1,3-galactosyltransferase-deficient pigs*. Science, 2003. **299**(5605): p. 411-4.
37. Kobayashi, T. and D.K. Cooper, *Anti-Gal, alpha-Gal epitopes, and xenotransplantation*. Subcell Biochem, 1999. **32**: p. 229-57.
38. Galili, U., *Evolution of alpha 1,3galactosyltransferase and of the alpha-Gal epitope*. Subcell Biochem, 1999. **32**: p. 1-23.
39. Cooper, D.K.C. and R. Wagner, *Nonhuman Primates in Biomedical Research*, in *Nonhuman Primates in Biomedical Research (Second Edition)*, C.R. Abee, et al., Editors. 2012, Academic Press: Boston. p. 391-402.

40. Chen, G., et al., *Acute rejection is associated with antibodies to non-Gal antigens in baboons using Gal-knockout pig kidneys*. Nat Med, 2005. **11**(12): p. 1295-8.
41. Cadili, A. and N. Kneteman, *The role of macrophages in xenograft rejection*. Transplant Proc, 2008. **40**(10): p. 3289-93.
42. Gollackner, B., et al., *Acute vascular rejection of xenografts: roles of natural and elicited xenoreactive antibodies in activation of vascular endothelial cells and induction of procoagulant activity*. Transplantation, 2004. **77**(11): p. 1735-41.
43. Cooper, D.K., et al., *The role of genetically engineered pigs in xenotransplantation research*. J Pathol, 2016. **238**(2): p. 288-99.
44. Scalea, J., et al., *T-cell-mediated immunological barriers to xenotransplantation*. Xenotransplantation, 2012. **19**(1): p. 23-30.
45. Griesemer, A., K. Yamada, and M. Sykes, *Xenotransplantation: immunological hurdles and progress toward tolerance*. Immunol Rev, 2014. **258**(1): p. 241-58.
46. Cooper, D.K., et al., *The pathobiology of pig-to-primate xenotransplantation: a historical review*. Xenotransplantation, 2016. **23**(2): p. 83-105.
47. Cowan, P.J., S.C. Robson, and A.J. d'Apice, *Controlling coagulation dysregulation in xenotransplantation*. Curr Opin Organ Transplant, 2011. **16**(2): p. 214-21.
48. Schmelzle, M., J. Schulte Esch, 2nd, and S.C. Robson, *Coagulation, platelet activation and thrombosis in xenotransplantation*. Curr Opin Organ Transplant, 2010. **15**(2): p. 212-8.
49. Robson, S.C., D.K. Cooper, and A.J. d'Apice, *Disordered regulation of coagulation and platelet activation in xenotransplantation*. Xenotransplantation, 2000. **7**(3): p. 166-76.
50. Roussel, J.C., et al., *Pig thrombomodulin binds human thrombin but is a poor cofactor for activation of human protein C and TAFI*. Am J Transplant, 2008. **8**(6): p. 1101-12.
51. Bühler, L., et al., *Coagulation and thrombotic disorders associated with pig organ and hematopoietic cell transplantation in nonhuman primates*. Transplantation, 2000. **70**(9): p. 1323-31.
52. Houser, S.L., et al., *Thrombotic microangiopathy and graft arteriopathy in*

- pig hearts following transplantation into baboons.* Xenotransplantation, 2004. **11**(5): p. 416-25.
53. Ezzelarab, M.B. and D.K.C. Cooper, *Systemic inflammation in xenograft recipients (SIXR): A new paradigm in pig-to-primate xenotransplantation?* Int J Surg, 2015. **23**(Pt B): p. 301-305.
54. Li, J., et al., *Evidence for the important role of inflammation in xenotransplantation.* J Inflamm (Lond), 2019. **16**: p. 10.
55. Kushner, T. and R. Belliotti, *Baby Fae: a beastly business.* J Med Ethics, 1985. **11**(4): p. 178-83.
56. Allan, J.S., *Nonhuman primates as organ donors?* Bull World Health Organ, 1999. **77**(1): p. 62-3.
57. Appel, J.Z., 3rd, L. Buhler, and D.K. Cooper, *The pig as a source of cardiac xenografts.* J Card Surg, 2001. **16**(5): p. 345-56.
58. Kögel, J. and G. Marckmann, *"Xenotransplantation challenges us as a society": What well-informed citizens think about xenotransplantation.* EMBO Rep, 2020. **21**(9): p. e50274.
59. Mohiuddin, M.M., et al., *Chimeric 2C10R4 anti-CD40 antibody therapy is critical for long-term survival of GTKO.hCD46.hTBM pig-to-primate cardiac xenograft.* Nat Commun, 2016. **7**: p. 11138.
60. Wolf, E., et al., *Genetically modified pigs as donors of cells, tissues, and organs for xenotransplantation.* Anim Front, 2019. **9**(3): p. 13-20.
61. Byrne, G.W., C.G.A. McGregor, and M.E. Breimer, *Recent investigations into pig antigen and anti-pig antibody expression.* International Journal of Surgery, 2015. **23**: p. 223-228.
62. Bouhours, D., C. Pourcel, and J.E. Bouhours, *Simultaneous expression by porcine aorta endothelial cells of glycosphingolipids bearing the major epitope for human xenoreactive antibodies (Gal alpha 1-3Gal), blood group H determinant and N-glycolylneuraminic acid.* Glycoconj J, 1996. **13**(6): p. 947-53.
63. Lambrights, D., D.H. Sachs, and D.K. Cooper, *Discordant organ xenotransplantation in primates: world experience and current status.* Transplantation, 1998. **66**(5): p. 547-61.
64. Denner, J., *Reduction of the survival time of pig xenotransplants by porcine cytomegalovirus.* Virol J, 2018. **15**(1): p. 171.
65. Plowright, W., N. Edington, and R.G. Watt, *The behaviour of porcine cytomegalovirus in commercial pig herds.* J Hyg (Lond), 1976. **76**(1): p. 125-35.

66. Egerer, S., et al., *Early weaning completely eliminates porcine cytomegalovirus from a newly established pig donor facility for xenotransplantation*. *Xenotransplantation*, 2018. **25**(4): p. e12449.
67. Denner, J., *Sensitive detection systems for infectious agents in xenotransplantation*. *Xenotransplantation*, 2020: p. e12594.
68. Denner, J., *Virus Safety of Xenotransplantation*. *Viruses*, 2022. **14**(9).
69. Denner, J., et al., *Impact of porcine cytomegalovirus on long-term orthotopic cardiac xenotransplant survival*. *Sci Rep*, 2020. **10**(1): p. 17531.
70. Denner, J., *Recombinant porcine endogenous retroviruses (PERV-A/C): a new risk for xenotransplantation?* *Arch Virol*, 2008. **153**(8): p. 1421-6.
71. Lenner, R., et al., *Pulmonary complications in cardiac transplant recipients*. *Chest*, 2001. **120**(2): p. 508-13.
72. Ulubay, G., et al., *Postoperative Pleural Effusions After Orthotopic Heart Transplant: Cause, Clinical Manifestations, and Course*. *Exp Clin Transplant*, 2016. **14**(Suppl 3): p. 125-129.
73. Misra, H., et al., *Prevalence of pleural effusions post orthotopic heart transplantation*. *Respirology*, 2007. **12**(6): p. 887-90.
74. Labidi, M., et al., *Pleural effusions following cardiac surgery: prevalence, risk factors, and clinical features*. *Chest*, 2009. **136**(6): p. 1604-1611.
75. Savaş, Ş.B., et al., *Prevalence, Cause, and Treatment of Respiratory Insufficiency After Orthotopic Heart Transplant*. *Experimental and clinical transplantation: official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation*, 2015. **13**: p. 140-143.
76. Deutsche Gesellschaft für Kardiologie (DGK.). *ESC Pocket Guidelines. Perikarderkrankungen, Version 2015*. 2015 Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://leitlinien.dgk.org/2017/pocket-leitlinie-perikarderkrankungen-version-2017/>.
77. Wessman, D.E. and C.M. Stafford, *The postcardiac injury syndrome: case report and review of the literature*. *South Med J*, 2006. **99**(3): p. 309-14.
78. Valentine, H.A., et al., *Increasing pericardial effusion in cardiac transplant recipients*. *Circulation*, 1989. **79**(3): p. 603-9.
79. Al-Dadah, A., et al., *Clinical Course and Predictors of Pericardial Effusion Following Cardiac Transplantation*. *Transplantation proceedings*, 2007. **39**: p. 1589-92.
80. Hastillo, A., et al., *Cyclosporine-induced pericardial effusion after cardiac*

- transplantation.* Am J Cardiol, 1987. **59**(12): p. 1220-2.
81. Hauptman, P.J., et al., *Pericardial effusions after cardiac transplantation.* J Am Coll Cardiol, 1994. **23**(7): p. 1625-9.
82. Vandenberg, B.F., et al., *Clinical significance of pericardial effusion after heart transplantation.* J Heart Transplant, 1988. **7**(2): p. 128-34.
83. Sun, J.P., et al., *Non-invasive evaluation of orthotopic heart transplant rejection by echocardiography.* J Heart Lung Transplant, 2005. **24**(2): p. 160-5.
84. Ciliberto, G.R., et al., *Significance of pericardial effusion after heart transplantation.* The American Journal of Cardiology, 1995. **76**(4): p. 297-300.
85. Quin, J.A., et al., *Predictors of pericardial effusion after orthotopic heart transplantation.* J Thorac Cardiovasc Surg, 2002. **124**(5): p. 979-83.
86. Annema, J., et al., *Bildatlas der Lungen-und Pleurasonographie.* 2010: Springer.
87. König, H.E. and H.-G. Liebich, *Anatomie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis.* 2014: Schattauer Verlag.
88. Nickel, R., A. Schummer, and E. Seiferle, *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band II.* Auflage, S, 1987. **301**.
89. Light, R.W., *Pleural Diseases* p. 8-18. 2013, Philadelphia, UNITED STATES: Wolters Kluwer.
90. Kiefer, T., *Thoraxdrainagen.* 2016: Springer.
91. Noppen, M., *Normal volume and cellular contents of pleural fluid.* Paediatric respiratory reviews, 2004. **5**: p. S201-S203.
92. Kocjančič, I., K. Kocjančič, and T. Čufer, *Imaging of pleural fluid in healthy individuals.* Clinical radiology, 2004. **59**(9): p. 826-829.
93. Boka, K. *Pleural effusion.* 2016 Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/299959-overview>.
94. Yalcin, N.G., C.K.C. Choong, and N. Eizenberg, *Anatomy and Pathophysiology of the Pleura and Pleural Space.* Thoracic Surgery Clinics, 2013. **23**(1): p. 1-10.
95. Miserocchi, G., *Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover.* European Respiratory Journal, 1997. **10**(1): p. 219-25.
96. Starling, E.H. and A.H. Tubby, *On Absorption from and Secretion into the Serous Cavities.* J Physiol, 1894. **16**(1-2): p. 140-55.
97. Feller-Kopman, D. and R. Light, *Pleural Disease.* N Engl J Med, 2018. **378**(8): p. 740-751.

98. Hamm, H., *Pneumothorax und Pleuraerguss*, in *Klinische Pneumologie*, H. Matthys and W. Seeger, Editors. 2008, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 579-593.
99. Jany, B. and T. Welte, *Pleural Effusion in Adults-Etiology, Diagnosis, and Treatment*. Dtsch Arztebl Int, 2019. **116**(21): p. 377-386.
100. Hoit, B.D., *Anatomy and Physiology of the Pericardium*. Cardiol Clin, 2017. **35**(4): p. 481-490.
101. Natanzon, A. and I. Kronzon, *Pericardial and pleural effusions in congestive heart failure-anatomical, pathophysiologic, and clinical considerations*. Am J Med Sci, 2009. **338**(3): p. 211-6.
102. Vogiatzidis, K., et al., *Physiology of pericardial fluid production and drainage*. Frontiers in Physiology, 2015. **6**.
103. Ben-Horin, S., et al., *The composition of normal pericardial fluid and its implications for diagnosing pericardial effusions*. Am J Med, 2005. **118**(6): p. 636-40.
104. Karkhanis, V.S. and J.M. Joshi, *Pleural effusion: diagnosis, treatment, and management*. Open Access Emerg Med, 2012. **4**: p. 31-52.
105. Porcel, J.M. and R.W. Light, *Diagnostic approach to pleural effusion in adults*. Am Fam Physician, 2006. **73**(7): p. 1211-20.
106. Vakamudi, S., N. Ho, and P.C. Cremer, *Pericardial Effusions: Causes, Diagnosis, and Management*. Progress in Cardiovascular Diseases, 2017. **59**(4): p. 380-388.
107. Hoit, B.D., *Pericardial Effusion and Cardiac Tamponade in the New Millennium*. Current Cardiology Reports, 2017. **19**(7): p. 57.
108. Strimel W. *Pericardial Effusion*. 2018 Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/157325-overview>.
109. Light, R.W., *Pleural effusions*. Med Clin North Am, 2011. **95**(6): p. 1055-70.
110. Platis, I.E. and C.E. Nwogu, *Chylothorax*. Thorac Surg Clin, 2006. **16**(3): p. 209-14.
111. Merrigan, B.A., D.C. Winter, and G.C. O'sullivan, *Chylothorax*. BJS (British Journal of Surgery), 1997. **84**(1): p. 15-20.
112. Boersma, W.G., J.A. Stigt, and H.J. Smit, *Treatment of haemothorax*. Respir Med, 2010. **104**(11): p. 1583-7.
113. Stanzel, F. and A. Ernst, *Diagnostik der Pleuraerkrankungen*. Der

- Pneumologe, 2008. **5**(4): p. 211.
114. Light, R.W., et al., *Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates*. Annals of internal medicine, 1972. **77**(4): p. 507-513.
115. Halwachs-Baumann, G., *Labormedizin: Klinik-Praxis-Fallbeispiele*. 2011: Springer-Verlag.
116. Kopcinovic, L.M. and J. Culej, *Pleural, peritoneal and pericardial effusions - a biochemical approach*. Biochem Med (Zagreb), 2014. **24**(1): p. 123-37.
117. Heffner, J.E., K. Highland, and L.K. Brown, *A meta-analysis derivation of continuous likelihood ratios for diagnosing pleural fluid exudates*. Am J Respir Crit Care Med, 2003. **167**(12): p. 1591-9.
118. Heffner, J.E., et al., *Diagnostic value of tests that discriminate between exudative and transudative pleural effusions*. Chest, 1997. **111**(4): p. 970-980.
119. Porcel, J.M. and M. Vives, *Classic, abbreviated, and modified Light's criteria: the end of the story?* Chest, 1999. **116**(6): p. 1833-6.
120. Schild, H.H., et al., *Treatment options in patients with chylothorax*. Dtsch Arztbl Int, 2013. **110**(48): p. 819-26.
121. Ferreiro, L., J.M. Porcel, and L. Valdés, *Diagnosis and management of pleural transudates*. Archivos de Bronconeumología (English Edition), 2017. **53**(11): p. 629-636.
122. Burgess, L.J., *Biochemical analysis of pleural, peritoneal and pericardial effusions*. Clinica Chimica Acta, 2004. **343**(1): p. 61-84.
123. Burgess, L.J., et al., *Role of biochemical tests in the diagnosis of large pericardial effusions*. Chest, 2002. **121**(2): p. 495-9.
124. Meyers, D.G., R.E. Meyers, and T.W. Prendergast, *The usefulness of diagnostic tests on pericardial fluid*. Chest, 1997. **111**(5): p. 1213-21.
125. Cale-Subia, L., *Applicability of Light's Criteria in the biochemical analysis of pericardial fluid*. Philippine Heart Center Journal, 2011. **16**.
126. Imazio, M., et al., *Contemporary biochemical analysis of normal pericardial fluid*. Heart, 2020. **106**(7): p. 541-544.
127. Janda, S. and J. Swiston, *Diagnostic accuracy of pleural fluid NT-pro-BNP for pleural effusions of cardiac origin: a systematic review and meta-analysis*. BMC Pulm Med, 2010. **10**: p. 58.
128. Han, Z.J., et al., *Diagnostic Accuracy of Natriuretic Peptides for Heart Failure in Patients with Pleural Effusion: A Systematic Review and Updated Meta-Analysis*. PLoS One, 2015. **10**(8): p. e0134376.

129. Luchner, A.B., Christoph; Laufs, Ulrich, *BNP und NT-proBNP: Zwei kardiale Marker werden „erwachsen“*. Dtsch Arztbl International, 2016. **113**(41).
130. Porcel, J.M., et al., *Biomarkers of heart failure in pleural fluid*. Chest, 2009. **136**(3): p. 671-677.
131. Kolditz, M., et al., *High diagnostic accuracy of NT-proBNP for cardiac origin of pleural effusions*. Eur Respir J, 2006. **28**(1): p. 144-50.
132. Porcel, J.M., *Pleural effusions from congestive heart failure*. Semin Respir Crit Care Med, 2010. **31**(6): p. 689-97.
133. Tomcsányi, J., et al., *NT-brain natriuretic peptide levels in pleural fluid distinguish between pleural transudates and exudates*. Eur J Heart Fail, 2004. **6**(6): p. 753-6.
134. Han, C.H., J.E. Choi, and J.H. Chung, *Clinical utility of pleural fluid NT-pro brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients with pleural effusions*. Intern Med, 2008. **47**(19): p. 1669-74.
135. Kaufmann, S.H.E., *Basiswissen Immunologie*. 2013: Springer Berlin Heidelberg.
136. Xirouchaki, N., et al., *Diagnostic value of interleukin-1alpha, interleukin-6, and tumor necrosis factor in pleural effusions*. Chest, 2002. **121**(3): p. 815-20.
137. Yokoyama, A., et al., *Interleukin 6 activity in pleural effusion. Its diagnostic value and thrombopoietic activity*. Chest, 1992. **102**(4): p. 1055-9.
138. Ohman, E.M., et al., *Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. GUSTO IIA Investigators*. N Engl J Med, 1996. **335**(18): p. 1333-41.
139. Zimmermann, R., et al., *Troponin T release after heart transplantation*. Br Heart J, 1993. **69**(5): p. 395-8.
140. Baysal, S.S., et al., *OP-177 PLEURAL FLUID TROPONIN LEVEL IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS FOR TRANSUDATIVE PLEURAL EFFUSION*. International Journal of Cardiology, 2013. **163**: p. S69-S70.
141. González-Herrera, L., et al., *Cardiac troponin T determination by a highly sensitive assay in postmortem serum and pericardial fluid*. Forensic Sci Med Pathol, 2016. **12**(2): p. 181-8.
142. Pérez-Cárceles, M.D., et al., *Diagnostic efficacy of biochemical markers in diagnosis post-mortem of ischaemic heart disease*. Forensic Sci Int, 2004. **142**(1): p. 1-7.
143. Osuna, E., et al., *Distribution of biochemical markers in biologic fluids*:

- application to the postmortem diagnosis of myocardial infarction.* Am J Forensic Med Pathol, 1998. **19**(2): p. 123-8.
144. Frank, W. and R. Loddenkemper, *Management von Pleuraerkrankungen.* Der Pneumologe, 2014. **11**(2): p. 177-189.
145. Cabalka, A.K., et al., *Postpericardiotomy syndrome in pediatric heart transplant recipients. Immunologic characteristics.* Tex Heart Inst J, 1995. **22**(2): p. 170-6.
146. Agzarian, J., et al., *The effect of colchicine administration on postoperative pleural effusion following lung resection: a randomized blinded placebo-controlled feasibility pilot study†.* European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 2017. **53**(4): p. 822-827.
147. Yamani, N., et al., *Diagnosis, treatment, and management of pericardial effusion- review.* Ann Med Surg (Lond), 2022. **80**: p. 104142.
148. Labb  , C., L. Tremblay, and Y. Lacasse, *Pericardiocentesis versus Pericardiotomy for Malignant Pericardial Effusion: A Retrospective Comparison.* Current Oncology, 2015. **22**(6): p. 412-416.
149. Delorme, S., J. Debus, and S. Delorme, *Sonographie: 105 Tabellen.* 2005: Georg Thieme Verlag.
150. St. Delorme, J.D., *Duale Reihe-Sonographie.* 2005, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
151. Michels, G., et al., *Sonographie organ-und leitsymptomorientiert.* 2012: Springer.
152. Gross, M., *Sonographie: Schritt für Schritt zur Diagnose.* 2007: Elsevier, Urban&FischerVerlag.
153. Ibitoye, B.O., et al., *Ultrasonographic quantification of pleural effusion: comparison of four formulae.* Ultrasonography, 2018. **37**(3): p. 254-260.
154. Zechner, P.M., et al., *[Lung ultrasound in acute and critical care medicine].* Anaesthetist, 2012. **61**(7): p. 608-17.
155. R  hrig, S., et al., *Thoracoabdominal sonography (E-FAST plus)-AI training module 5 in anaesthesiologist: performed focussed sonography.* Anasthesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie: AINS, 2011. **46**(11-12): p. 772-781.
156. Dietrich, C.F., et al., *Ultrasound of the pleurae and lungs.* Ultrasound Med Biol, 2015. **41**(2): p. 351-65.
157. Volpicelli, G., et al., *International evidence-based recommendations for*

- point-of-care lung ultrasound.* Intensive Care Medicine, 2012. **38**(4): p. 577-591.
158. Dietrich, C.F., B. Braden, and T.O. Wagner, *Thorax-und Lungensonographie.* Deutsches Arzteblatt-Arztliche Mitteilungen-Ausgabe A, 2001. **98**(3): p. 103-109.
159. Brogi, E., et al., *Thoracic ultrasound for pleural effusion in the intensive care unit: a narrative review from diagnosis to treatment.* Critical Care, 2017. **21**(1): p. 325.
160. Mathis, G., et al., *Bildatlas der Lungen-und Pleurasonographie.* 2007: Springer.
161. Goecke, W. and W. Schwerk, *Die Real-Time Sonographie in der Diagnostik von Pleuraergüssen,* in *Ultraschall-diagnostik'89.* 1990, Springer. p. 385-387.
162. Usta, E., M. Mustafi, and G. Ziemer, *Ultrasound estimation of volume of postoperative pleural effusion in cardiac surgery patients.* Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2010. **10**(2): p. 204-7.
163. Chan, L.K., *The Thoracic Shape of Hominoids.* Anatomy Research International, 2014. **2014**: p. 324850.
164. Hassan, M., et al., *Validation of equations for pleural effusion volume estimation by ultrasonography.* J Ultrasound, 2017. **20**(4): p. 267-271.
165. Newitt, A.L., P.J. Cripps, and J. Shimali, *Sonographic estimation of pleural fluid volume in dogs.* Vet Radiol Ultrasound, 2009. **50**(1): p. 86-90.
166. Shimali, J., P.J. Cripps, and A.L. Newitt, *Sonographic pleural fluid volume estimation in cats.* J Feline Med Surg, 2010. **12**(2): p. 113-6.
167. Steen, S., et al., *Safe orthotopic transplantation of hearts harvested 24 hours after brain death and preserved for 24 hours.* Scand Cardiovasc J, 2016. **50**(3): p. 193-200.
168. Lower, R.R. and N.E. Shumway, *Studies on orthotopic homotransplantation of the canine heart.* Surg Forum, 1960. **11**: p. 18-9.
169. Binder, U. and A. Skerra, *PASylation®: A versatile technology to extend drug delivery.* Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2017. **31**: p. 10-17.
170. Leigh, S., *Growth and Development of Baboons.* 2009. p. 57-88.
171. Ekser, B., et al., *Comparison of hematologic, biochemical, and coagulation parameters in α 1,3-galactosyltransferase gene-knockout pigs, wild-type pigs, and four primate species.* Xenotransplantation, 2012. **19**(6): p. 342-54.
172. Eibenberger, K.L., et al., *Quantification of pleural effusions: sonography versus radiography.* Radiology, 1994. **191**(3): p. 681-684.

173. Lorenz, J., N. Börner, and H. Nikolaus, *Sonographische volumetrie von pleuraergüssen*. Ultraschall in der Medizin, 1988. **9**(05): p. 212-215.
174. German Primate Centre - Leibniz Institute for primate research. *Hamadryas baboon*. Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://www.dpz.eu/en/unit/animal-husbandry/primates-at-the-dpz/hamadryas-baboon.html>.
175. Cawthon Lang KA. *Primate Factsheets: Olive baboon (Papio anubis) Taxonomy, Morphology, & Ecology* 2006 April 18 Access Date: 05.02.2024]; Available from: <https://primate.wisc.edu/primate-info-net/pin-factsheets/pin-factsheet-olive-baboon/>.
176. Kumar, A., et al., *Interobserver Agreement of Lung Ultrasound Findings of COVID-19*. J Ultrasound Med, 2021. **40**(11): p. 2369-2376.
177. *Tierschutz-Versuchstierverordnung*, in §23 *Verwenden von Primaten*, B.d.J. Deutschland, Editor. 2013.
178. Teichgräber, U.K.-M. and J. Hackbarth, *Sonographic bedside quantification of pleural effusion compared to computed tomography volumetry in ICU patients*. Ultrasound international open, 2018. **4**(04): p. E131-E135.
179. Roch, A., et al., *Usefulness of ultrasonography in predicting pleural effusions > 500 mL in patients receiving mechanical ventilation*. Chest, 2005. **127**(1): p. 224-32.
180. Gázquez, I., et al., *Comparative analysis of Light's criteria and other biochemical parameters for distinguishing transudates from exudates*. Respir Med, 1998. **92**(5): p. 762-5.
181. Romero-Candeira, S., et al., *Is it meaningful to use biochemical parameters to discriminate between transudative and exudative pleural effusions?* Chest, 2002. **122**(5): p. 1524-1529.
182. Vives, M., et al., *A study of Light's criteria and possible modifications for distinguishing exudative from transudative pleural effusions*. Chest, 1996. **109**(6): p. 1503-7.
183. Heffner, J.E., L.K. Brown, and C.A. Barbieri, *Diagnostic value of tests that discriminate between exudative and transudative pleural effusions. Primary Study Investigators*. Chest, 1997. **111**(4): p. 970-80.
184. Zoia, A., et al., *Discriminating transudates and exudates in dogs with pleural effusion: diagnostic utility of simplified Light's criteria compared with traditional veterinary classification*. Vet Rec, 2020. **187**(1): p. e5.

185. Zoia, A., et al., *A new approach to pleural effusion in cats: markers for distinguishing transudates from exudates*. J Feline Med Surg, 2009. **11**(10): p. 847-55.
186. Zoia, A. and M. Drigo, *Diagnostic value of Light's criteria and albumin gradient in classifying the pathophysiology of pleural effusion formation in cats*. J Feline Med Surg, 2016. **18**(8): p. 666-72.
187. Firat, A.C., et al. *Early postoperative pulmonary complications after heart transplantation*. in *Transplantation proceedings*. 2015. Elsevier.
188. Jain, A., et al., *Characteristics of early pleural effusions after orthotopic heart transplantation: comparison with coronary artery bypass graft surgery*. Pleura Peritoneum, 2021. **6**(4): p. 161-165.
189. Gabaldo, K., et al., *Postpericardiotomy syndrome incidence, diagnostic and treatment strategies: experience AT two collaborative centers*. Acta Clin Croat, 2019. **58**(1): p. 57-62.
190. Ritter, G., *Are we missing something? What really is the post cardiotomy syndrome?* South Med J, 2006. **99**(3): p. 206-7.
191. St André, A.C. and A. DelRossi, *Hemodynamic management of patients in the first 24 hours after cardiac surgery*. Crit Care Med, 2005. **33**(9): p. 2082-93.
192. Längin, M., et al., *Xenografts Show Signs of Concentric Hypertrophy and Dynamic Left Ventricular Outflow Tract Obstruction After Orthotopic Pig-to-baboon Heart Transplantation*. Transplantation, 2023. **107**(12): p. e328-e338.
193. Längin, M., et al., *Hemodynamic evaluation of anesthetized baboons and piglets by transpulmonary thermodilution: Normal values and interspecies differences with respect to xenotransplantation*. Xenotransplantation, 2020. **27**(5): p. e12576.
194. Maulik, S.K. and S. Mishra, *Hypertrophy to failure: what goes wrong with the fibers of the heart?* Indian Heart J, 2015. **67**(1): p. 66-9.
195. Avello, N., et al., *Clinical utility of NT-proBNP levels in late heart transplantation patients*. Clin Chim Acta, 2010. **411**(3-4): p. 161-6.
196. Rice, T.W., et al., *Prevalence and characteristics of pleural effusions in superior vena cava syndrome*. Respirology, 2006. **11**(3): p. 299-305.
197. Singh, A. and B.A. Brisson, *Chylothorax associated with thrombosis of the cranial vena cava*. Can Vet J, 2010. **51**(8): p. 847-52.
198. Blalock, A., R.S. Cunningham, and C.S. Robinson, *EXPERIMENTAL PRODUCTION OF CHYLOTHORAX BY OCCLUSION OF THE SUPERIOR*

- VENA CAVA. Ann Surg, 1936. **104**(3): p. 359-64.
199. Light, R.W., *Pleural effusion due to pulmonary emboli*. Curr Opin Pulm Med, 2001. **7**(4): p. 198-201.
200. Halter, J., et al., *Evidence of systemic cytokine release in patients undergoing cardiopulmonary bypass*. J Extra Corpor Technol, 2005. **37**(3): p. 272-7.
201. Paparella, D., T.M. Yau, and E. Young, *Cardiopulmonary bypass induced inflammation: pathophysiology and treatment. An update*. Eur J Cardiothorac Surg, 2002. **21**(2): p. 232-44.
202. Butler, J., G.M. Rocker, and S. Westaby, *Inflammatory response to cardiopulmonary bypass*. Ann Thorac Surg, 1993. **55**(2): p. 552-9.
203. Zhang, G., et al., *The Role of Interleukin-6 (IL-6) in the Systemic Inflammatory Response in Xenograft Recipients and in Pig Kidney Xenograft Failure*. Front Immunol, 2021. **12**: p. 788949.
204. Thompson, C.P., et al., *A perspective on the potential detrimental role of inflammation in pig orthotopic heart xenotransplantation*. Xenotransplantation, 2021. **28**(4): p. e12687.
205. Griffiths, P., I. Baraniak, and M. Reeves, *The pathogenesis of human cytomegalovirus*. J Pathol, 2015. **235**(2): p. 288-97.
206. Cibulski, S.P., et al., *Porcine cytomegalovirus infection is not associated to the occurrence of post-weaning multisystemic wasting syndrome*. Vet Med Sci, 2015. **1**(1): p. 23-29.
207. Jhelum, H., et al., *Evidence for Microchimerism in Baboon Recipients of Pig Hearts*. Viruses, 2023. **15**(7).
208. Mohiuddin, M.M., et al., *Role of anti-CD40 antibody-mediated costimulation blockade on non-Gal antibody production and heterotopic cardiac xenograft survival in a GTKO.hCD46Tg pig-to-baboon model*. Xenotransplantation, 2014. **21**(1): p. 35-45.
209. Mohiuddin, M.M., et al., *B-cell depletion extends the survival of GTKO.hCD46Tg pig heart xenografts in baboons for up to 8 months*. Am J Transplant, 2012. **12**(3): p. 763-71.
210. Thompson, P., et al., *CD40-specific costimulation blockade enhances neonatal porcine islet survival in nonhuman primates*. Am J Transplant, 2011. **11**(5): p. 947-57.
211. Murphy, K. and C. Weaver, *Die gezielte Beeinflussung der Immunantwort*,

- in *Janeway Immunologie*, K. Murphy and C. Weaver, Editors. 2018, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 913-976.
212. Buoro, S., et al., *What is the normal composition of pericardial fluid?* Heart, 2021. **107**(19): p. 1584-1590.
213. Zemans, R.L., K. Chatterjee, and M.A. Matthay, *Diagnostic utility of B-type natriuretic peptide in patients with acute dyspnea or pleural effusions.* Am J Med, 2004. **116**(6): p. 424-6.
214. Fujita, M., et al., *Pericardial fluid as a new material for clinical heart research.* Int J Cardiol, 2001. **77**(2-3): p. 113-8.
215. Watanabe, M., et al., *The roles of natriuretic peptides in pericardial fluid in patients with heart failure.* Clin Cardiol, 2009. **32**(3): p. 159-63.
216. Cao, L. and D.G. Gardner, *Natriuretic peptides inhibit DNA synthesis in cardiac fibroblasts.* Hypertension, 1995. **25**(2): p. 227-34.
217. Goetze, J.P., et al., *Cardiac natriuretic peptides.* Nat Rev Cardiol, 2020. **17**(11): p. 698-717.
218. Della Corte, V., et al., *The Natriuretic Peptide System: A Single Entity, Pleiotropic Effects.* International Journal of Molecular Sciences, 2023. **24**(11): p. 9642.
219. Hall, C., *Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP.* Eur J Heart Fail, 2004. **6**(3): p. 257-60.
220. Zhu, B.L., et al., *Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 2: analysis for application in the diagnosis of sudden cardiac death with regard to pathology.* Leg Med (Tokyo), 2006. **8**(2): p. 94-101.
221. Luna, A., *Is postmortem biochemistry really useful? Why is it not widely used in forensic pathology?* Leg Med (Tokyo), 2009. **11 Suppl 1**: p. S27-30.

XIII. PUBLIKATIONEN IM RAHMEN DER LABORTÄTIGKEIT

Jhelum H, Bender M, Reichart B, Mokelke M, Radan J, Neumann E, Krabben L, Abicht J, Kaufer B, Längin M, Denner J. **Evidence for Microchimerism in Baboon Recipients of Pig Hearts.** *Viruses* Jul 24;15(7):1618.

doi: 10.3390/v15071618

Bender M, Längin M, Reichart B, Mokelke M, Radan J, Neumann E, Michel S, Ellgass R, Cowan PJ, Wolf E, Abicht JM, Brenner P. **Overcoming perioperative inflammation as a hurdle for successful preclinical orthotopic cardiac xenogeneic transplantations - particular in regard of the mandatory use of heart-lung machines.** *Xenotransplantation.* 2022 May;29(3):e12749.

doi: 10.1111/xen.12749. Epub 2022 May 26.

Bender M, Längin M, Reichart B, Mokelke M, Radan J, Neumann E, Michel S, Ellgass R, Cowan PJ, Wolf E, Abicht JM, Brenner P. **Clinical cardiac xenotransplantation first in the clinical arena.** *Xenotransplantation.* 2022 Jan;29(1):e12734.

doi: 10.1111/xen.12734. Epub 2022 Feb 15.

Längin M, Reichart B, Steen S, Sjöberg T, Paskevicius A, Liao Q, Qin G, Mokelke M, Mayr T, Radan J, Issl L, Buttgereit I, Ying J, Fresch AK, Panelli A, Egerer S, Bähr A, Kessler B, Milusev A, Sfriso R, Rieben R, Ayares D, Murray PJ, Ellgass R, Walz C, Klymiuk N, Wolf E, Abicht JM, Brenner P. **Cold non-ischemic heart preservation with continuous perfusion prevents early graft failure in orthotopic pig-to-baboon xenotransplantation.** *Xenotransplantation.* 2021 Jan;28(1):e12636.

doi: 10.1111/xen.12636. Epub 2020 Aug 25.

Reichart B, Längin M, Radan J, Mokelke M, Buttgereit I, Ying J, Fresch AK, Mayr T, Issl L, Buchholz S, Michel S, Ellgass R, Mihalj M, Egerer S, Baehr A, Kessler B, Kemter E, Kurome M, Zakhartchenko V, Steen S, Sjöberg T, Paskevicius A, Krüger L, Fiebig U, Denner J, Godehardt AW, Tönjes RR, Milusev A, Rieben R, Sfriso R, Walz C, Kirchner T, Ayares D, Lampe K, Schönmann U, Hagl C, Wolf E, Klymiuk N, Abicht JM, Brenner P. **Pig-to-non-human primate heart transplantation: The final step toward clinical xenotransplantation?** *J Heart Lung Transplant.* 2020 Aug;39(8):751-757.

doi: 10.1016/j.healun.2020.05.004. Epub 2020 May 15

Denner J, Längin M, Reichart B, Krüger L, Fiebig U, Mokelke M, Radan J, Mayr T, Milusev A, Luther F, Sorvillo N, Rieben R, Brenner P, Walz C, Wolf E, Roshani B, Stahl-Hennig C, Abicht **Impact of porcine cytomegalovirus on long-term orthotopic cardiac xenotransplant survival.** *JM. Sci Rep.* 2020 Oct 16;10(1):17531.

doi: 10.1038/s41598-020-73150-9.

Längin, M., Mayr, T., Reichart, B., Michel, S., Buchholz, S., Guethoff, S., Dashkevich, A., Baehr, A., Egerer, S., Bauer, A., Mihalj, M., Panelli, A., Issl, L., Ying, J., Fresch, A., Buttgereit, I., Mokelke, M., Radan, J., Werner, F., Lutzmann, I., Steen, S., Sjöberg T., Paskevicius, A., Qiuming, L., Sfriso, R., Rieben, R., Dahlhoff, M., Kessler, B., Kempfer, E., Kurome, M., Zakhartchenko, V., Klett, K., Hinkel, R., Kupatt, C., Falkenau, A., Reu, S., Ellgass, R., Herzog, R., Binder, U., Wich, G., Skerra, A., Ayares, D., Kind, A., Schönmann, U., Kaup, F.-J., Hagl, C., Wolf, E., Klymiuk, N., Brenner, P. & Abicht, J.-M.: **Consistent success in life-supporting porcine cardiac xenotransplantation.** *Nature* **568**, E7 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1108-4>

Längin M, Konrad M, Reichart B., Mayr T., Vandewiele S., Postrach J., Mokelke M., Radan J., Brenner P., Bauer A., Abicht J.-M. et al. **Hemodynamic evaluation of anesthetized baboons and piglets by transpulmonary thermodilution: Normal values and interspecies differences with respect to xenotransplantation** *Xenotransplantation*. 2019;00:e12576
<https://doi.org/10.1111/xen.12576>

Jhelum H, Bender M, Reichart B, Mokelke M, Radan J, Neumann E, Krabben L, Abicht J, Kaufer B, Längin M, Denner J. **Evidence for Microchimerism in Baboon Recipients of Pig Hearts.** *Viruses* Jul 24;15(7):1618. doi: 10.3390/v15071618

XIV. ANHANG

1. Ergänzung Material und Methoden

1.1. Liste der verwendeten Medikamente

Substanz	Präparat	Hersteller
2-Propanol, 1-Propanol, Biphenyl-2-ol	Kodan Tinktur forte, gefärbt, Hautantiseptikum	Schülke und Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland
Anakinra	Kineret 100 mg/0,67 ml	Swedish Orphan Biovitrum GmbH
Anti-CD40 (2C10R4)	Mouse Rhesus chimeric IgG4, 96,4 ml, 1000 mg	NHPRR MassBiologics, University of Massachusetts Medical School, USA
Atropinsulfat	Atropinsulfat 0,5 mg/ml	B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Azaperon	Stresnil, 40 mg/ml	JANSSEN-CILAG GmbH, Neuss, Deutschland
Cimetidin	H2 Blocker-ratiopharm 100 mg/2 ml	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Dimetindenmaleat	Histakut	Gebro Pharma GmbH, Fieberbrunn, Deutschland
Enalaprilat	EnaHEXAL i.v. 1,25 mg	HEXAL AG, Holzkirchen, Deutschland
Epoetin beta	NeoRecormon 2.000 IE Fertigspritze	Roche Pharma AG
Esketaminhydrochlorid	Ketanest, 25 mg/ml	Pfizer Pharma PFE GmbH, Berlin, Deutschland
Etanercept	Erelzi 25 mg	Hexal AG
Fentanyl	Fentadon 50 µg/ml	Dechra
Heparin	Heparin-Natrium, 25000 IE	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Hydrocortison	Hydrocortison sine 100 mg/2 ml	Pfizer Pharma GmbH
Imipenem		
Ketaminhydrochlorid	Ketavet, 100 mg/ml	Pharmacia GmbH, Berlin, Deutschland
Metamizol	Novaminsulfon-ratiopharm 2,5mg/5ml	Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland
Methylprednisolon	Methylprednisolot i.v. 16 mg	mibe GmbH Arzneimittel, Brehna, Deutschland
Metroprololartat	Beloc i.v. 1 mg/ml	Recordati Industria Chimica e Farmaceutica S.p.A, Mailand, Italien
Midazolam	Midazolam 5 mg/ml	B Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Mycophenolat-Mofetil (MMF)	CellCept 500 mg Injektionslösung	Roche Registration GmbH, Grenzach-Whylen, Deutschland

Substanz	Präparat	Hersteller
Ondansetron	Zofran 4 mg/2 ml injekt.	Novartis Pharma GmbH, Nürnberg Deutschland
Ondansetronhydrochlorid-Dihydrat	Ondansetron 4 mg/2ml	Aristo Pharma GmbH
Propofol	Propofol 20 mg/ml	B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Protaminhydrochlorid	Protamin ME 5.000 IE/ml	Meda Pharma GmbH & Co. KG.,Bad Homburg, Deutschland
Ranitidin	Ranitic injekt 10 mg/ml	HEXAL AG, Holzkirchen, Deutschland
Rituximab	AntiCD20-Antikörper	Apotheke Klinikum Großhadern, Zytostatika Abteilung
Romiplostim	Nplate 250 µg	Amgen GmbH, München, Deutschland
Sevofluran	Sevorane 100%, 250 ml	AbbVie Deutschland GmbH & Co.Kg, Ludwigshafen, Deutschland
Tensirolimus	Torisel 30 mg	Pfizer Berlin, Deutschland
Tocilizumab	RoActemra 20 mg/ml	Roche Pharma AG
Ultraschall-Gel	SONOSID® 500 ml	Asid Bonz GmbH, Herrenberg, Deutschland
anti-CD40L PAS Fab	αCD40L-PAS#1(600)-FabΔHis, 13 mg/ml	XL-protein, Freising, Deutschland

Tabelle 20: Liste der verwendeten Medikamente : Angabe von Substanz, Präparat und Hersteller

1.2. Liste der verwendeten Verbrauchsmaterialien und sonstige Materialien

Material	Herstellername	Herstellerfirma
3-Wege-Hahn	Discofix® C	B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
Abwaschset	Abwasch-Set, allgemein	Fuhrmann Medical s.r.o., Habartov, Tschechien
Blasenkatheter, verschiedene Größen	UROMED-Kinder-Ballon – Katheter Nelatonspitze	UROMED Kurt Drews KG, Meessen
Elektrokardiogramm		Siemens, Berlin, Deutschland
Endotrachealtuben, verschiedene Größen (4,5-6,5 mm I.D.)	Shiley™, Lo-Contour Oral/Nasal Tracheal Tube Cuffed reinforced; Shiley™, TaperGuard Oral/Nasal Tracheal Tube, Murphy eye; Mallinckrodt™, Lo-Contour Oral/Nasal Tracheal Tube Cuffed	Covidien Ilc., Mansfield, MA, USA
Herz-Präservationsmaschine		XIVO Perfusion AB, Göteborg, Schweden

Material	Herstellernname	Herstellerfirma
Kapnographiegerät	Dräger Vamos	Dräger Safety AG & Co. KGaA, Lübeck, Deutschland
Narkosegerät	Siemens –Elema AB SV 900	Siemens, Berlin, Deutschland
Pavianjacke	Primate jacket	Lomir Biomedical Inc., Quebec, Canada
Perfusorspritze	Original Perfusor® Syringe, 50 ml, Luer Lock	B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
PiCCO	PiCCO plus	Pulsion Medical Systems, München, Deutschland
Pulsoxymeter		Siemens, Berlin, Deutschland
Sterile Abdecktücher	Universalset	Medline International, Châteaubriant, Frankreich
Swivel	Large animal swivel	Lomir Biomedical Inc., Quebec, Canada
Telemetrie- Überwachungssystem	Telemetrie System	Data Science International Inc.(Harvard Bioscience), St. Paul MN, USA
Urin Mess-System	Urin Mess-System	Conod Medical Co. Limited Changshu City, Jiansu Province , China
ZVK 1-lumig	Einlumiger Katheter, 14 Ga, 16 cm	Arrow International, LLC Morrisville, NC, USA
ZVK 2-lumig	Pediatric Two-Lumen CVC, 5 Fr, 13cm	Arrow International LLC; Morrisville, NC, USA
ZVK 3-lumig	Hickman 10 F, Dreifachlumen- Zentralvenenkatheter	C.R. Bard GmbH, Karlsruhe, Deutschland

Tabelle 21: Übersicht über die verwendeten Verbrauchsmaterialien

2. Ergänzung Ergebnisse

2.1. Umfassende Ergebnisse der Ergussdiagnostik zur Einteilung der Pleurapunkte in Transsudat und Exsudat

Tier	Postoperativer Tag	LDH-Quotient	Proteinquotient	Verkürzte Light Kriterien
17187	26	1,6	0,5	Exsudat
	30	1,4	0,4	Exsudat
	33	1,6	0,5	Exsudat
	35	1,6	0,4	Exsudat
	38	1,3	0,7	Exsudat
	40	1,9	0,7	Exsudat
	41	1,8	0,7	Exsudat
	42	1,7	0,7	Exsudat
	43	1,0	0,4	Exsudat
	44	1,4	0,4	Exsudat
	45	1,3	0,5	Exsudat
	46	1,1	0,8	Exsudat
	47	0,8	0,9	Exsudat
	48	1,0	0,4	Exsudat
	49	0,6	0,5	Transsudat
17186	1	4,6	0,6	Exsudat
	2	3,2	0,6	Exsudat
	4	0,8	0,6	Exsudat
	7	1,2	0,6	Exsudat
17491	103	0,6	0,5	Transsudat
	105	0,9	0,5	Exsudat
	107	0,9	0,5	Exsudat
	110	0,8	0,5	Exsudat

Tier	Postoperativer Tag	LDH-Quotient	Proteinquotient	Verkürzte Light Kriterien
17493	117	0,8	0,5	Exsudat
	119	0,8	0,4	Exsudat
	121	n/a	n/a	n/a
	126	0,7	0,4	Exsudat
	128	0,6	0,4	Transsudat
	131	0,6	0,4	Transsudat
	138	0,7	0,5	Exsudat
	141	0,7	0,5	Exsudat
	145	n/a	n/a	n/a
	150	n/a	n/a	n/a
	152	0,9	0,5	Exsudat
	154	0,6	0,4	Transsudat
	156	0,5	0,4	Transsudat
	160	n/a	n/a	n/a
	163	0,5	0,4	Transsudat
	166	0,4	0,4	Transsudat
	170	n/a	n/a	n/a
	173	0,8	0,3	Exsudat
	177	0,5	0,4	Transsudat
	180	0,4	0,4	Transsudat
	181	0,6	0,4	Transsudat
17493	47	n/a	n/a	n/a
	139	0,7	0,6	Exsudat
	142	0,5	0,5	Transsudat
	146	0,8	0,5	Exsudat
	181	0,4	0,5	Transsudat
	184	n/a	n/a	n/a
	187	n/a	n/a	n/a

Tier	Postoperativer Tag	LDH-Quotient	Proteinquotient	Verkürzte Light Kriterien
17494	188	0,4	0,3	Transsudat
	2	5,7	0,6	Exsudat
	4	1,6	0,6	Exsudat
	12	0,5	0,7	Exsudat
	13	0,6	0,5	Transsudat
	14	0,4	0,5	Transsudat
17492	21	0,2	0,5	Transsudat
	22	0,3	0,5	Transsudat
	23	0,4	0,4	Transsudat
	24	0,3	0,5	Transsudat
	26	n/a	0,4	n/a
17482	22	1,5	0,7	Exsudat
16861	13	1,3	0,7	Exsudat
	15	1,0	0,5	Exsudat
	17	0,9	0,5	Exsudat
17769	40	0,7	0,5	Exsudat
	42	0,7	0,5	Exsudat
	44	0,8	0,4	Exsudat
	47	0,6	0,4	Transsudat
	48	0,8	0,4	Exsudat
	49	0,8	0,3	Exsudat
	50	0,9	0,4	Exsudat
17781	15	1,8	0,7	Exsudat
	19	2,1	0,6	Exsudat
	21	2,1	0,6	Exsudat
	26	1,7	0,6	Exsudat

Tier	Postoperativer Tag	LDH-Quotient	Proteinquotient	Verkürzte Light Kriterien
	28	1,7	0,4	Exsudat

Tabelle 22: Umfassende Ergebnisse der Ergussdiagnostik: Einteilung der einzelnen Pleurapunkte in Exsudate und Transsudate nach den verkürzten Light Kriterien (LDH-Quotient, Proteinquotient)

2.2. Körperoberfläche

Tier ID	Berechnete KOF
16048	0,50738188
17140	0,372922043
17139	0,446133206
17186	0,580732621
17187	0,598254791
17188	0,544755525
17482	0,562906495
17491	0,649174957
17493	0,61549167
17494	0,488102196
17492	0,665650192
16701	0,562906495
16861	0,448181481
17769	0,697930334

Tabelle 23: Körperoberfläche (KOF) von allen 15 Tieren. Nach der Formel von Leigh et al. berechnet [170].

XV. DANKSAGUNG

Zu Beginn möchte ich allen beteiligten Menschen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt und gefördert haben, meinen großen Dank aussprechen.

Ein besonderer Dank gilt vor allem meiner Arbeitsgruppe, der präklinischen kardialen Xenotransplantation am Walter-Brendel-Zentrum in München. Hervorheben möchte ich dabei die sehr kollegiale, humorvolle und wertschätzende Zusammenarbeit in diesem Team. Die unvergleichliche und angenehme Arbeitsatmosphäre wird mir immer sehr positiv in Erinnerung bleiben.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Bruno Reichart und Herrn Professor Dr. med. Paolo Brenner, gilt mein besonderer Dank dafür, dass sie mir die Möglichkeit gaben dieses spannende und herausfordernde Thema zu bearbeiten.

Bei Herrn Professor Dr. med. vet. Eckhard Wolf möchte ich mich für die Möglichkeit der Promotion an der tiermedizinischen Fakultät München und die Betreuung, Durchsicht und Korrektur der vorliegenden Arbeit bedanken.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. med. Matthias Längin für die unermüdliche und verlässliche Betreuung, die engagierte Unterstützung, die vielen fachlichen Diskussionen und die gewissenhafte Korrektur dieser Arbeit. Den kompetenten wissenschaftlichen Beistand seinerseits und den Zuspruch bei Motivationseinbrüchen wusste ich immer sehr zu schätzen.

Durch meine beiden Kolleginnen und guten Freundinnen Dr. med. vet. Maren Mokelke und Dr. med. vet. Elisabeth Neumann erfuhr ich viel Unterstützung und wiederkehrend aufmunternde und liebevolle Worte- vielen Dank dafür. Das hat mir sehr geholfen. Auch meiner Kollegin und guten Freundin Ines Buttgereit möchte ich für ihre Unterstützung während dieser Zeit danken.

Ebenso bedanke ich mich ganz besonders und herzlich bei PD Dr. med. Jan-Michael Abicht und Dr. med. Martin Bender für die abschließende Durchsicht und Korrektur dieser Arbeit und für die angenehme und humorvolle Zusammenarbeit. Die mittäglichen konstruktiven und auch lustigen Gespräche werden mir fehlen.

Des Weiteren möchte ich den Mitarbeitern des gesamten Walter-Brendel-Zentrums für die kollegiale Zusammenarbeit danken. Insbesondere dem Tierhausleiter Dr. med. vet. Mehdi Shakarami und dem Team des Tierstalls.

Außerdem gilt mein Dank dem statistischen Beratungslabor der Ludwigs-

Maximilians-Universität München, insbesondere Frau Lisa Kleinlein, für die fachliche Beratung bei der statistischen Auswertung.

Meine guten Freundinnen Karin Schiefelbein und Silvia Lipsky haben mir immer Mut zugesprochen und im richtigen Moment für eine kurzweilige Ablenkung gesorgt- Dankeschön dafür.

Ein besonders inniger Dank gilt natürlich meiner Familie: Meinen Eltern, meiner Schwester Lea und meiner Oma für die emotionale Unterstützung, für die aufbauenden und motivierenden Worte und für ihre Geduld. Danke, dass ihr immer für mich da wart!