

Technische Universität München

Klinik für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler am Deutschen

Herzzentrum München

(Direktor: Univ.-Prof. J. Hess, Ph.D.)

Die Hämodynamik drei Tage alter Lämmer  
nach intrauteriner Anlage eines  
aortopulmonalen Shunts

Michael Fritz Steidl

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

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

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. J. Hess, Ph.D.
2. Priv.-Doz. Dr. A. Hager

Die Dissertation wurde am 15.09.2009 bei der Technischen Universität  
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 18.11.2009  
angenommen.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>Fragestellung</b> .....	<b>17</b>
2.1	Unterschiede zwischen fetalem und postnatalem Kreislauf .....	17
2.2	Ähnlichkeiten und Unterschiede im Kreislauf zwischen Lamm und Mensch .....	18
2.3	Darstellung des fetalen Kreislaufes im Lamm .....	19
2.4	Peri- und Postnatale Anpassung:.....	21
2.5	Pulmonale Hämodynamik bei angeborenen Herzfehlern mit aortopulmonaler Verbindung.....	24
2.6	Hämodynamik im Modell eines aortopulmonalen Shunt .....	25
2.7	Ziel der Studie .....	27
<b>3</b>	<b>Material und Methodik</b> .....	<b>28</b>
3.1	Versuchstiere .....	28
3.2	Experimentelles Vorgehen .....	30
3.2.1	Anästhesie der Mutterschafe.....	30
3.2.2	Operationsvorbereitung.....	32
3.2.3	Chirurgisches Vorgehen zur intrauterinen Anlage eines aortopulmonalen Shunts .....	32
3.2.4	Postoperative Versorgung der Muttertiere .....	37
3.2.5	Postnatale Versorgung der Lämmer .....	37
3.2.6	Anästhesie der Lämmer .....	38
3.2.7	Vorbereitung der Hämodynamischen Untersuchung der Lämmer .....	39
3.2.8	Hämodynamische Untersuchung der 3 Tage alten Lämmer .....	42
3.2.9	Euthanasie der Versuchstiere .....	43
3.3	Untersuchte Parameter .....	43
3.3.1	Mittlerer pulmonalarterieller Druck (mean pulmonary arterial pressure, mPAP).....	43
3.3.2	Mittlerer linksatrialer Druck (mean left atrial pressure, mLAP) .....	43
3.3.3	Mittlerer rechtsatrialer Druck (mean right atrial pressure, mRAP).....	44

3.3.4 Systemarterieller Druck (systemic arterial pressure, SAP).....	44
3.3.5 Pulsamplitude (pulse pressure, PP).....	44
3.3.6 Verhältnis von mittleren pulmonalarteriellen Druck zum mittleren systemarteriellen Druck (mPAP:mSAP).....	44
3.3.7 Pulmonaler Druckgradient.....	44
3.3.8 Herzfrequenz (HF) .....	45
3.3.9 Blutfluss durch die Arteria pulmonalis (Qp, Qp/kgKG) .....	45
3.3.10 Pulmonalvaskulärer Widerstand (pulmonary vascular resistance, PVR) .....	45
3.3.11 Systemvaskulärer Widerstand (systemic vascular resistance, SVR) .....	45
3.3.12 Verhältnis von Lungenblutfluss zum systemischen Blutfluss (Qp/Qs).....	46
3.4 Statistische Verfahren.....	47
3.4.1 Berechnungen.....	47
3.4.2 Grafische Veranschaulichung .....	47
3.5 Ausschlusskriterien .....	48
<b>4 Ergebnisse.....</b>	<b>50</b>
4.1 Tägliche Untersuchungen .....	52
4.2 Ergebnisse der hämodynamischen Untersuchung.....	55
4.2.1 Mittlerer pulmonalarterieller Druck (mPAP).....	55
4.2.2 Mittlerer linksatrialer Druck (mLAP).....	56
4.2.3 Mittlerer rechtsatrialer Druck (mRAP) .....	57
4.2.4 Systolischer systemarterieller Druck (sSAP).....	58
4.2.5 Mittlerer systemarterieller Druck (mSAP).....	59
4.2.6 Diastolischer systemarterieller Druck (dSAP).....	60
4.2.7 Blutdruckamplitude (pulse pressure).....	61
4.2.8 Verhältnis von mittlerem Pulmonalarteriellem Druck zu mittlerem systemisch arteriellem Druck (mPAP:mSAP).....	62
4.2.9 Herzfrequenz (HF) .....	63
4.2.10 Pulmonaler Druckgradient.....	64

4.2.11 Lungenblutfluß über die linke Lunge (Qp).....	65
4.2.12 Verhältnis von Lungenblutfluss zu Körperblutfluss (Qp/Qs).....	66
4.2.13 Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR).....	67
4.2.14 Systemvaskulärer Widerstand (SVR).....	68
<b>5 Diskussion.....</b>	<b>69</b>
<b>6 Zusammenfassung .....</b>	<b>84</b>
<b>7 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>87</b>
<b>8 Danksagung .....</b>	<b>96</b>

### **Im Text verwendete Abkürzungen:**

A.	Arterie
Aa.	Arterien
AF	Atemfrequenz
AO	Aorta
APAH	associated pulmonary arterial hypertension, assoziierte pulmonalarterielle Hypertension
ASD	Vorhofseptumdefekt
BE	base excess, Basendefizit / -überschuß
BW	body weight, Körpergewicht
CO	cardiac output, kardiale Auswurfsleistung
CVO	combined ventricular output, gesamtventrikuläre Auswurfsleistung
DA	Ductus arteriosus, klinisch oft: Ductus Botalli
DHM	Deutsches Herzzentrum München
DOB	date of birth, Geburtsdatum
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase
FPAH	familial pulmonary arterial hypertension, familiäre pulmonalarterielle Hypertension
HF	Herzfrequenz
i.m.	Intramuskulär
i.v.	Intravenös
IPAH	idiopathische pulmonary arterial hypertension, idiopathische pulmonalarterielle Hypertension
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
LA	linkes Atrium, linker Vorhof
LAP	left atrial pressure, Druck im linken Vorhof

dSAP	diastolic systemic arterial pressure, diastolischer systemarterieller Druck
mLAP	mean left atrial pressure, mittlerer Druck im linken Vorhof
mPAP	mean pulmonary arterial pressure, mittlerer pulmonalarterieller Druck
mSAP	mean systemic arterial pressure, mittlerer systemarterieller Druck
MW	Mittelwert
PA	Pulmonalarterie
PAH	pulmonary arterial hypertension, pulmonalarterielle Hypertension, pulmonalarterieller Bluthochdruck
PAP	pulmonary arterial pressure, pulmonalarterieller Druck
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
PDA	persistierender Ductus arteriosus
PFO	persistierendes Foramen ovale
PHN	pulmonary hypertension, pulmonale Hypertension
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
PPH	primary pulmonary hypertension, primäre pulmonale Hypertension
PPHN	persistent pulmonary hypertension of the newborn, primäre pulmonale Hypertension des Neugeborenen
PV	Pulmonalvene
PVR	pulmonary vascular resistance, Lungengefäßwiderstand
PVR <sub>art</sub>	arterielle Lungengefäßwiderstand
PVR <sub>kap</sub>	kapillärer Lungengefäßwiderstand
PVR <sub>ven</sub>	venöser Lungengefäßwiderstand
Q	Blutfluß
Q <sub>p</sub>	Lungenblutfluß

Qs	Körperblutfluß
R	resistance, Widerstand
RA	rechtes Atrium, rechter Vorhof
SD	standard deviation, Standardabweichung
sSAP	systolic systemic arterial pressure, systolischer systemarterieller Druck
SVR	systemic vascular resistance, systemischer Gefäßwiderstand
TUM	Technische Universität München
UCSF	University of California, San Francisco
V.	Vene
VCI	Vena cava inferior
VCS	Vena cava superior
VEGF	vascular endothelial growth factor
VSD	Ventrikelseptumdefekt
Vv.	Venen
WHO	World Health Organisation

## 1 Einleitung

In Deutschland und den westlichen Industrienationen kommt etwa jedes 100. Kind mit einem Herzfehler zur Welt [34, 36, 57]. Damit handelt es sich um eine der häufigsten vorgeburtlichen Entwicklungsstörungen. Herzfehler kommen gehäuft bei Frühgeborenen und im Rahmen genetischer Syndrome vor. Das Spektrum der angeborenen Herzfehler ist sehr groß und reicht von Symptomlosigkeit bei Anstrengung bis hin zu massiver Beeinträchtigung des Neugeborenen in Ruhe. Nicht jeder dieser Herzfehler ist behandlungsbedürftig.

Viele Herzfehler stellen eine fehlerhafte Verbindung zwischen Lungen- und Körperkreislauf dar. Es kommt zur Vermischung von oxygeniertem und nicht-oxygeniertem Blut. Entsprechend ihrer Symptomatik werden die Defekte klinisch oft in zyanotische und nicht-zyanotische Herzfehler unterschieden. Nicht-zyanotische Defekte sind dabei weitaus häufiger. Vom linken Ventrikel rezirkuliert bereits oxygeniertes Blut über den entsprechenden Defekt in den Lungenkreislauf. Man spricht von einem Links-Rechts-Shunt. Im Gegensatz dazu gelangt beim zyanotischen Herzfehler mit Rechts-Links-Shunt venöses, schlecht oxygeniertes Blut wieder in den Körperkreislauf.

Optimierte postnatale Untersuchungen, engmaschige Vorsorgeuntersuchungen und fortschrittliche Operationsverfahren haben dazu beigetragen die Frühmortalität dieser Kinder in den letzten Jahrzehnten zu senken. Viele der Defekte gehen aber trotz adäquater Diagnostik und Therapie mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität einher.

Primäre Ursache sind dabei nicht mehr die Schäden am Herzen sondern sekundäre Veränderungen im Lungengefäßbett, die zu einem erhöhten Blutdruck im Lungengefäßsystem führen. Man spricht von pulmonaler Hypertonie (pulmonary hypertension, PHN).

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert PHN als einen mittleren pulmonalarteriellen Blutdruck (mean pulmonary arterial pressure, mPAP) von mehr als 25 mmHG in Ruhe oder mehr als 30 mmHg unter Belastung. Die PHN wird in 5 große Kategorien eingeteilt (Tabelle 1.1) [58].

*Tabelle 1.1 Modifizierte WHO-Klassifikation der Pulmonalen Hypertonie von 2003 (Venedig)  
(modifiziert nach SIMONNEAU [58])*

- 
1. Pulmonalarterielle Hypertension (pulmonary arterial hypertension, PAH)
    - 1.1. Idiopathisch (IPAH)
    - 1.2. Familiär (FPAH)
    - 1.3. Assoziiert (APAH)
      - 1.3.1. Kollagenosen der Gefäße
      - 1.3.2. Angeborene Shunts zwischen System- und Lungenkreislauf
      - 1.3.3. Portale Hypertension
      - 1.3.4. HIV Infektion
      - 1.3.5. Medikamente und Drogen
      - 1.3.6. Andere (Schilddrüsenerkrankungen, Glykogenspeicherkrankheiten, Morbus Gaucher, hereditäre hämorrhagische Teleangiektasien, Hämoglobinopathien, myeloproliferative Erkrankungen, Splenektomie)
  2. Pulmonale Hypertension bei zugrunde liegender Erkrankung
    - 2.1. Erkrankung des linken Vorhofs oder Ventrikels
    - 2.2. Erkrankung einer Klappe im linken Herzen
  3. Pulmonale Hypertension assoziiert mit Lungenerkrankungen und/oder Hypoxiämie
    - 3.1. Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)
    - 3.2. Interstitielle Lungenerkrankung
    - 3.3. Schlafapnoesyndrom
    - 3.4. Störungen mit alveolärer Hypoventilation
    - 3.5. Chronischer Aufenthalt in großen Höhen
    - 3.6. Entwicklungsstörungen
  4. Pulmonale Hypertension aufgrund thrombotischer und/oder embolischer Ereignisse
    - 4.1. Thromboembolischer Verschluss proximaler Lungenarterien
    - 4.2. Thromboembolischer Verschluss distaler Lungenarterien
    - 4.3. Nicht-thrombotische Lungenembolie (Tumor, Parasiten, Fremdmaterial)
  5. Andere
 

Sarkoidose, pulmonale Langerhans Histiozytose, Lymphangiomatose, Kompression pulmonaler Gefäße durch Lymphadenopathie der Tumoren, fibrosierende Mediastinitis, andere Prozesse
- 

In Kategorie 1 fallen dabei sämtliche Veränderungen, die den arteriellen Schenkel des Lungenkreislaufs beeinträchtigen. Es kommt zur pulmonalarteriellen Hypertonie (pulmonary arterial hypertension, PAH). Diese wird nach den vier, in Tabelle 1.2 aufgeführten Kriterien definiert.

*Tabelle 1.2 WHO Kriterien zur Definition einer pulmonalerterieller Hypertonie (PAH)  
(modifiziert nach SIMONNEAU [58])*

---

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. mittlerer pulmonalerterieller Druck (mPAP) &gt;25 mmHg in Ruhe bzw. &gt;30 mmHg bei Belastung</li> <li>2. Verschlussdruck der Lungenkapillaren (pulmonary capillary wedge pressure, PCWP) &lt; 15 mmHg</li> <li>3. Pulmonaler Gefäßwiderstand (pulmonary vascular resistance = PVR) &gt; 120 dynes/sec/cm<sup>5</sup></li> <li>4. Transpulmonaler Druckgradient &gt;10 mmHg (= mPAP – PCWP)</li> </ol>
--

---

Die Kategorien PAH unklarer Genese (idiopatische PAH) und familiär gehäuft auftretender PAH (familiäre PAH) werden in Zukunft mehr und mehr durch den Begriff der genetisch definierten PAH ersetzt werden. Daneben gibt es die sogenannte assoziierte PAH. In diese Entität fällt dabei PAH als Folge von Herzfehlern mit Verbindung von Lungen- und Systemkreislauf (Links-Rechts-Shunt). Außerdem fallen in diese Kategorie Patienten nach bestimmten chirurgischen Korrekturverfahren, die teils in palliativer Absicht Lungen und Systemkreislauf verbinden. Tabelle 1.3 gibt eine Übersicht über derartige Herzfehler. Da die angeborenen Herzfehler einen großen Teil der Gruppe „assoziierte PAH“ einnehmen, werden zunehmend Stimmen laut, die eine Überarbeitung der Klassifikation fordern. Trotz morphologisch ähnlichem Erscheinungsbild möchte man auf den eindeutigen Unterschied in der Pathogenese hindeuten [61].

*Tabelle 1.3 Übersicht der angeborenen Herzfehler mit erhöhtem Lungenblutfluß*

---

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Univentrikuläres Herz</li> <li>2. Hypoplastisches Linksherz-Syndrom</li> <li>3. Truncus arteriosus</li> <li>4. Transposition der großen Gefäße</li> <li>5. Vorhofseptumdefekt (atrial septum defect, ASD)</li> <li>6. Ventrikelsptumdefekt (ventricular septum defect, VSD)</li> <li>7. Kombination aus ASD und VSD</li> <li>8. Persistierender Ductus Arteriosus (patent ductus arteriosus, PDA)</li> <li>9. Postoperativ (nach: Potts-, Waterston-, Blalock-Taussing-Operationen)</li> </ol>
--

---

Zur Klassifikation angeborener Herzfehler mit sytemisch-pulmonaler Kreislaufverbindung werden heute die in Tabelle 1.4 angegebenen Richtlinien verwendet.

*Tabelle 1.4 Richtlinien zur Klassifikation angeborener Shunts mit systemisch-pulmonaler Verbindung (modifiziert nach SIMONNEAU [58])*

---

1. Art
1.1 einfach
ASD
VSD
PDA
Totaler oder partieller V. anonymus Rückstrom
1.2 kombiniert
Beschreibung der Kombination und Definiton des Defektes
1.3 komplex
Truncus arteriosus
Singel Ventricle ohne pulmonalarterieller Obstruktion
Atrioventrikuläre Herzfehler
2.Größe
2.1 klein (ASD <2,0cm; VSD <1cm)
2.2 groß (ASD> 2,0cm; VSD >1cm)
3. Assoziierte extrakardiale Abnormitäten
4. Korrekturstatus
4.1 nicht korrigiert
4.2 teilweise korrigiert (Alter)
4.3 korrigiert: spontan oder chirurgisch (Alter)

---

Kommt es bei Neugeborenen infolge einer Störung in der Umstellung von pränatalen zu postnatalen Kreislaufverhältnissen zu einer PAH spricht man auch von einer persistierenden pulmonalen Hypertonie von Neugeborenen. (persistent pulmonary hypertension of the newborn, PPHN) Sie ist durch fehlenden Abfall des pulmonalvaskulären Widerstandes (pulmonary vascular resistance, PVR) bzw. das Unvermögen den niedrigen PVR nach der Geburt aufrechtzuerhalten gekennzeichnet [1].

Eine weitere Form von PAH wird gehäuft nach intraoperativem kardiopulmonalem Bypass herzchirurgisch versorgter Neugeborener, Säuglingen und Kleinkindern beobachtet [41]. Dass es in Folge von Herzfehlern zur Beeinträchtigung der Lunge und damit zur sekundären Belastung bis Dekompensation des Herzens kommen kann ist aus klinischer Sicht lange bekannt und wurde erstmals von Viktor Eisenmenger

beschrieben. Er beschrieb einen Patienten mit großem Ventrikelseptumdefek (VSD) und ausgeprägter Atemnot, der im Rechtsherzversagen (Cor pulmonale) verstarb [15]. Mitte des letzten Jahrhunderts wurde daher für die Abfolge Herzfehler mit Links-Rechts-Shunt, PAH, Rechts-Links-Shunt, sekundäres (Rechts-)Herzversagen der Begriff „Eisenmenger-Reaktion“ geprägt [63] (siehe Abbildung 1.1). In den späteren 50er Jahren wurden auch schon erste histologische Untersuchungen gemacht und eine, noch zum Teil heute angewendete, Klassifizierung in sechs Grade anhand morphologischer Veränderungen des Lungengefäßbett erarbeitet [29]. Auffällig war vor allem eine Zunahme der muskulären Schichten gefolgt von Vernarbungen. Diese Veränderungen werden auch in einer weiteren gebräuchlichen Klassifikation der WHO [58] beschrieben.

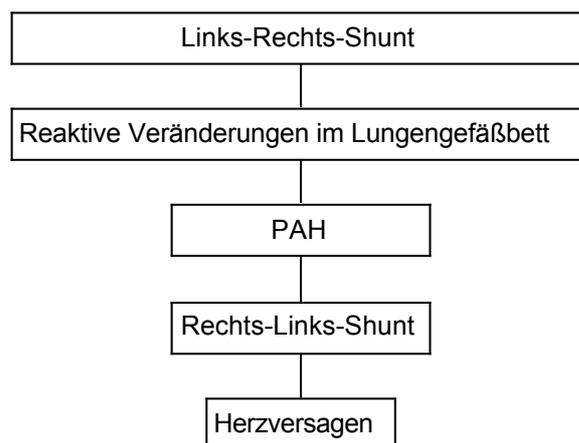


Abbildung 1.1 Schematische Darstellung der Eisenmenger-Reaktion

Dennoch sind die exakten Pathomechanismen und die zeitliche Abfolge der Veränderungen in der Entstehung von PAH unvollständig verstanden. Bezieht man das Ohm'sche Gesetz auf die Kreislaufsituation ergeben sich Gleichung 1.1 und aufgelöst nach dem mittleren pulmonalarteriellen Druck (mean pulmonary arterial pressure, mPAP) Gleichung 1.2. Aus den Gleichungen werden die einzelnen Faktoren die zu PAH führen können ersichtlich. Der Druckgradient über die Lunge entspricht der Spannung. Der pulmonalarterielle Druck (Ppa) ist hierbei mit dem mPAP gleichzusetzen und als pulmonalvenöser Druck (Ppv) wird im klinischen Alltag der

pulmonalkapilläre Verschlussdruck (pulmonary capillary wedge pressure, PCWP) herangezogen, da dieser weniger invasiv bestimmt werden kann. Der Blutfluß (Q) entspricht der Stromstärke und der pulmonale Gefäßwiderstand (pulmonary vascular resistance, PVR) dem Widerstand.

Gleichung 1.1

$$(P_{pa} - P_{pv}) = Q * PVR$$

Gleichung 1.2

$$mPAP = (Q * PVR) + PCWP$$

Aufgrund dieser Überlegungen wurden seit den 1960er Jahren viele Möglichkeiten in Betracht gezogen, PHN im Tiermodell in-vivo zu erzeugen und damit die Situation im Menschen nachzustellen indem man die einzelnen Faktoren aufschlüsselt, die ihrerseits die Variablen der Gleichung definieren. Tabelle 1.5 zeigt die möglichen Vorgehensweisen auf [30].

*Tabelle 1.5 Modelle zur künstlichen Schaffung von PHN (modifiziert nach HERGET [30] Die fett gedruckten Vorgehensweisen eignen sich zur direkten Druckerhöhung im pulmonalarteriellen Schenkel*

- 
1. **Hyperkinetisches Modell (z.B.:Anastomosierung von Lungengefäßen und Aorta bzw. großen Arterien)**
  2. **Restriktion oder Obstruktion des Lungengefäßbettes (z.B.: Pneumektomie, Lobektomie oder Embolisation von Lungengefäßen (z.B. mit Fibrin))**
  3. Venöse PHN (z.B.: Ligation der Pulmonalvenen [49])
  4. Medikamentös induzierte PHN: (z.B.: Monocrotalininjection [9])
  5. Chronische Hypoxie (z.B.: Isobare oder Hypobare Beatmung)
  6. Chronische Hyperkapnie
  7. Kombinationen (z.B. **Pulmonalarterienligation und Shunt** [25])
- 

Im so genannten hyperkinetischen Modell wird ein erhöhter Lungenblutfluss und PAH durch die Anastomosierung eines arteriellen Gefäßes mit dem Körperkreislauf geschaffen (arteriovenöse Fistel). Durch Verkleinerung des Lungengesamtvolumens kann ebenfalls der Blutfluss und Blutdruck im verbleibenden Lappen gesteigert werden. Eine weitere Methode besteht in

der intrauterinen Ligation des Ductus arteriosus [56]. Sie stellt jedoch einen gravierenden Eingriff in die intrauterinen Kreislaufverhältnisse dar.

Bei der Ligation der Pulmonalvenen und medikamentös induzierter PHN kommt es zur vorwiegenden Drucksteigerung im Lungenkreislauf, jedoch nicht primär im arteriellen Schenkel. PAH wurde bei der Pulmonalvenenligation nur in wenigen Fällen beobachtet. Chronische Hypoxie und chronische Hyperkapnie erzielen ähnliche Ergebnisse bzgl. Drucksteigerung und Flusssteigerung in den Lungengefäßen.

Verschiedene Spezies (v.a. Ratten, Kälber [59], Hunde, Schweine [25, 27, 49], Affen [9]) wurden zu Versuchen herangezogen. Viele dieser Experimente wurden jedoch erst an älteren Tieren durchgeführt und konnten aufgrund der bereits abgeschlossenen postnatalen Anpassungsvorgänge keinen Aufschluss mehr über frühzeitige Veränderungen geben.

Die intrauterine Anlage eines großen aortopulmonalen Shunts am Schaffötus entspricht dem in Tabelle 1.5 unter Punkt 1 beschriebenen Modell. Es wurde damit von REDDY et al. 1994 ein einzigartiges Modell geschaffen, den Druck sowie den Blutfluss in den Pulmonalarterien von Geburt an zu erhöhen und damit PAH zu erzeugen, ohne dabei die pränatale Kreislaufsituation zu beeinflussen [45]. Seit 2004 ist dieses Modell auch in München (Deutsches Herzzentrum München (DHM) / Technische Universität München (TUM)) etabliert.

Weltweit wurden bereits viele physiologische Untersuchungen am Schaf durchgeführt und etabliert. Viele grundlegende Erkenntnisse im Bereich der fetalen Zirkulation und der Umstellung mit der Geburt wurden am Schaf gewonnen. Hier sind besonders die Arbeiten von DAWES et al. in den 50er und 60er sowie die Arbeiten von RUDOLPH et al. seit den späten 60er Jahren des 20. Jahrhunderts hervorzuheben [12-14, 18, 19, 52, 53, 55]. Zahlreiche Erkenntnisse konnten auf die menschliche Physiologie übertragen werden (vgl. Kapitel 2).

Diverse Studien weisen darauf hin, dass vor allem ein pathologisch erhöhter Lungenblutfluss ( $Q_p$ ) und mPAP und daraus resultierende Scherkräfte nach der Geburt Ursachen für reaktive Veränderungen im Lungengefäßbett sind [11, 28]. Komplexe Muster in der Vaskularisierung der Lunge spielen zudem eine tragende Rolle [24]. Desweiteren wird Hypoxämie bzw. eine Kombination aus allen oder einzelnen Faktoren diskutiert.

Bekannt ist, dass es am Endothel der Lungengefäße zu Schäden und einer komplexen Kaskade und Dysregulation von Vasokonstriktion und Vasodilatation, sowie Apoptose und Zellproliferation kommt an der viele Mediatoren beteiligt sind. Jede einzelne Zellart spielt dabei eine individuelle Rolle.

All diesen Studien ist es zu verdanken, dass diese molekularbiologischen Erkenntnisse schon heute zur zielgerichteten Therapie der PAH eingesetzt werden. In den letzten 10 Jahren haben sich die Therapiemöglichkeiten der PAH rasant entwickelt. Heute gibt es weltweit mehrere anerkannte Medikamente zur gezielten Behandlung der PAH. Die wichtigste Rolle spielen hierbei die inhalative Stickstoffmonoxid (NO)-Therapie [44], sowie ET1-Rezeptorblocker (z.B. Bosentan), selektive PDE5-Hemmer (z.B. Sildenafil) [21] und Prostacycline (z.B. Epoprostenol, Iloprost) [10].

Trotz dieser Therapieoptionen und sinkender Frühmortalität geht die PAH nach wie vor mit einer relativ schlechten Prognose, erhöhter Morbidität und Mortalität einher [50]. Die PPHN hat eine Morbiditäts- und Mortalitätsrate von 10-20% [28]. Spätestens im Erwachsenenalter entwickeln Patienten mit angeborenen Herzfehlern in bis zu 10% aller Fälle eine PAH [62]. Eine weitere Studie geht sogar von einer Prävalenz von 15% PAH bei angeborenen Herzfehlern aus [23].

Da es selbst mit Therapie bei einem großen Patientenkollektiv zu Morbidität kommt, müssen früheste postnatale oder spätschwangerschaftliche, unter Umständen irreversible Änderungen auf hämodynamischer, anatomisch struktureller sowie mikro- und molekularbiologischer Ebene angenommen werden.

Die vorliegende Studie untersucht deshalb speziell die postnatale hämodynamische Situation 3 Tage alter Lämmer mit großem angeborenem (intrauterin angelegtem) aortopulmonalen Shunt.

## 2 Fragestellung

### 2.1 Unterschiede zwischen fetalem und postnatalem Kreislauf

Um die Folgen eines angeborenen Herzfehlers und die Situation in dem hier vorgestellten Modell zu verstehen ist es hilfreich und notwendig sich den fetalen Kreislauf und den des Neugeborenen vor Augen zu führen.

Die Sauerstoffversorgung erfolgt im fetalen Kreislauf ausschließlich über den diaplazentaren Austausch von mütterlichem und kindlichem Blut.

Die Lunge ist intrauterin noch nicht entfaltet und nicht für den Sauerstoffaustausch verantwortlich. Das Gefäßbett der Lunge wird weitestgehend umgangen (Bypass der Lunge). Auf Vorhofebene geschieht das über das Foramen ovale (FO). Eine weitere Verbindung zwischen pulmonalem Kreislauf und systemischem Kreislauf besteht nach der Ventrikelpassage über den Ductus arteriosus (DA, klinisch: Ductus Botalli). Die Vorhöfe sind somit direkt und die Ventrikel zwischen dem Hauptstamm der Pulmonalarterie (PA) und der Aorta (AO) verbunden (siehe Abbildung 2.1). Das rechte und das linke Herz sind funktionell parallel zueinander geschaltet. Ihre Auswurffractionen sind im Fötus unterschiedlich groß. Das Auswurfvolumen des rechten übersteigt das des linken Ventrikels (LV). Die anteiligen Fractionen werden allgemein und auch im Folgenden als prozentualer Anteil des gesamtventrikulären Auswurfs (combined ventricular output, CVO) angegeben.

Nach der Geburt kommt es zu einem Wandel der Druck- und Strömungsverhältnisse. Der Blutfluss durch die Lunge wird vom Blutfluss durch den Körper getrennt und das gesamte Blut durchfließt die beiden Kreislaufabschnitte (Lungekreislauf und Körperkreislauf) hintereinander. Dabei ist die Lunge das einzige Organ, welchem das gesamte Herzminutenvolumen (HMV) zukommt.

Die Ventrikel sind funktionell in Serie geschaltet. Es gibt keine Vermischung von pulmonalvenösem (sauerstoffreichem) und systemvenösen (sauerstoffarmem) Blut mehr.

Die im Folgenden angeführten Zahlen und Ergebnisse stammen aus Studien an Schafföten um den 145. Tag der Schwangerschaft. Zunehmend werden heute Erkenntnisse aus Ultraschalluntersuchungen am Menschen wichtig [54].

## **2.2 Ähnlichkeiten und Unterschiede im Kreislauf zwischen Lamm und Mensch**

Natürlich können die, an Schafen erworbenen Daten nicht direkt auf den Menschen übertragen werden. Um Parallelen festzustellen, und Ergebnisse anzuwenden, ist es wichtig, die Unterschiede zwischen den beiden Spezies zu kennen.

Einen maßgeblichen Unterschied stellt die Dauer der Schwangerschaft dar. Bei Schafen beträgt sie 150 Tage im Vergleich zum Menschen mit 280 Tage. Um Vergleiche ziehen zu können, wird die Schwangerschaft daher als Prozent der normalen Schwangerschaftsdauer angegeben. Ein Lamm am 100. Tag der Schwangerschaft entspricht 0,66 ebenso wie ein Mensch am 185. Tag der Schwangerschaft. Dabei darf man aber nicht davon ausgehen, dass unterschiedliche Spezies zu vergleichbaren Zeitpunkten in der Schwangerschaft unbedingt die gleichen Entwicklungen durchlaufen. So sind Lämmer trotz geringerer Tragezeit bei Geburt bereits reifer als neugeborene Kinder.

Auch unterscheidet sich die Verteilung des Blutes im Kreislauf auf die einzelnen Organe aufgrund des relativen Unterschiedes in der Organgröße. So macht beispielsweise das Gehirn im menschlichen Fötus ca. 12% des Körpergewichts aus und im Lamm nur 3% [54].

Trotz dieser Unterschiede haben wiederholte Untersuchungen im Schaffötus sowie im menschlichen Fötus gezeigt, dass die Kreislaufverhältnisse im Menschen denen im Schaf im Wesentlichen gleich und daher sehr gut übertragbar sind. [17, 31].

Die Geburtsgewichte beider Spezies sind mit ca. 3,5 kg ähnlich. Ebenso das fetale CVO mit 450 ml/min/kgKG [18]. Lediglich das Verhältnis von rechts- zu

linksventrikulärer Auswurfleistung (%CVO) ist beim menschlichen Fötus nicht 2:1 (2/3:1/3) sondern 1,2 bis 1,3:1 [51, 54].

### 2.3 Darstellung des fetalen Kreislaufes im Lamm

Sauerstoffhaltiges Blut wird über die V. umbilicalis in den Kreislauf eingespeist. Bei normaler Atmung der Mutter beträgt der  $pO_2$  in der V. umbilicalis 32 - 35 mmHg, bei einem fetalen  $P_{50}$  von 27 mmHg. Das bedeutet, dass bei einem  $pO_2$  von 27 mmHg bereits 50% des Hämoglobins mit  $O_2$  gesättigt sind. Das fetale Blut ist so trotz des geringen Partialdrucks zu ca. 80% mit Sauerstoff gesättigt und gut an die mütterliche Versorgung angepasst. Von diesem Blut fließen zwischen 20% - 90% (Durchschnitt: 55%) direkt über den Ductus venosus zum Herzen. Der restliche Anteil fließt vorwiegend über den linken Leberlappen und mündet über die V. hepatica sinistra zusammen mit dem Ductus venosus in die V. cava inferior (VCI; im Schaf: V. cava caudalis) (prozentualer Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ ): 70%). In der VCI beobachtet man eine deutliche Trennung eines sauerstoffreichen Blutstromes im hinteren linken Anteil des Gefäßes von einem sauerstoffarmen Strom im vorderen rechten Anteil.

Der hintere linke Anteil mit höherem Oxygenierungsgrad setzt sich aus dem Blut von Ductus venosus und der linken Lebervene zusammen. Dabei ist die Blutflussgeschwindigkeit durch den Ductus venosus höher (ca. 110 ml/min/kgKG) als die in den distaleren Abschnitten der VCI (ca. 30 ml/min/kgKG). Aufgrund dieser Strömungsverhältnisse und der Mündung des hinteren linken Anteils der unteren Hohlvene oberhalb der Crista dividens kommt es im Herzen zur Trennung der Ströme gemäß ihres Oxygenierungsgrades. Das besser oxygenierte Blut aus dem Ductus venosus und der linken Lebervene (prozentualer  $pO_2$ : 70%) fließt direkt über das Foramen ovale in den linken Vorhof.

Das Blut aus den distalen Anteilen der unteren Hohlvene sowie der rechten Lebervene hingegen fließen über die Trikuspidalklappe in den rechten Ventrikel. Nur etwa 5% des Blutes aus der oberen Hohlvene ( $pO_2$ [%]: 40)

fließen direkt durch das Foramen ovale. Der Hauptanteil vermischt sich mit dem Blut aus dem distalen Anteilen der VCI und der rechten Lebervene im rechten Ventrikel ( $pO_2$  [%]: 55). Einen geringen Anteil (15 ml/min/kgKG) steuern hier auch die, im rechten Vorhof mündenden Coronarvenen bei.

Vom rechten Ventrikel wird das Blut in die PA ausgeworfen. Im fetalen Kreislauf des Lammes sind dies ca 2/3 (66%) des CVO. Die PA ist daher wesentlich größer als die AO. 59% des CVO werden über den DA an der Lunge vorbeigeleitet. Nur durchschnittlich 7% des CVO durchfließen den Lungenkreislauf und erreichen den linken Ventrikel über die Vv. Pulmonalis. Der DA hat intrauterin ein ähnliches Kaliber wie die AO. Beim Neugeborenen beträgt der Durchmesser ca. 10 mm.

Im linken Vorhof vermischt sich das besser oxygenierte Blut (115 ml/min/kgKG) und das aus den Pulmonalvenen (35 ml/min/kgKG) und fließt in den linken Ventrikel ( $pO_2$ [%]: 65). Das sauerstoffreichste Blut, das intrauterin ca. 1/3 (34%) des CVO ausmacht versorgt somit das Herz selbst über die Coronararterien und das Gehirn über die Carotiden bevor sich ein geringer Teil der linksventrikulären Auswurfraction (10% des CVO) distal des Aortenisthmus mit dem rechtsventrikulären Blut aus dem DA vermischt und in der AO descendens einen prozentualen  $pO_2$  von 60% erreicht.

Diese Mischung von venösem Blut mit der linksventrikulären Auswurfraction entspricht einem physiologischen Rechts-Links-Shunt. Dieser setzt sich aus 45% des Blutes aus der VCS (Vena cava superior) und 53% des Blutes aus der VCI zusammen.

Der Rückfluss von oxygeniertem Umbilicalvenenblut über den Ductus venosus, das Foramen ovale und die Rückverteilung zur Plazenta entspricht einem links-rechts Shunt. Der Anteil des Blutes aus der V. umbilicalis der hier zu tragen kommt beträgt 22%.

Die Verteilung des Blutes auf die einzelnen Organe ändert sich im Laufe der Schwangerschaft deutlich. Vor allem im letzten Viertel der Schwangerschaft (ab dem 110. Tag) nimmt vor allem der Blutfluss zum Gehirn, dem Gastrointestinaltrakt und zu den Lungen zu [54, 55].

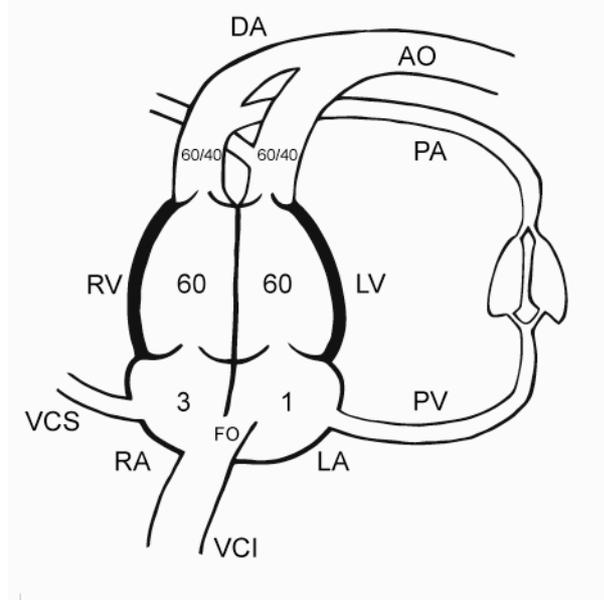


Abbildung 2.1 Schematische Darstellung des fetalen Kreislaufs im Lamm (modifiziert nach RUDOLPH [52]): Der Ductus arteriosus (DA) und das Foramen ovale (FO) sind geöffnet; Der DA verbindet PA und AO, während die Lunge noch nicht entfaltet ist. Die Zahlen in den skizzierten Hohlraumsystemen entsprechen den Drücken in [mmHg]; VCI (Vena cava inferior), VCS (Vena cava superior);

#### 2.4 Peri- und postnatale Anpassung:

Mit der Geburt kommt es zu gravierenden Änderungen im Kreislauf. Der Ort des Gasaustausches verlagert sich von der Plazenta in die Lunge des Neugeborenen. Die Lunge entfaltet sich, die alveoläre  $O_2$ -Konzentration nimmt zu. Durch das Abtrennen der Nabelschnur wird die Verbindung zur Plazenta unterbrochen. Der Stoffwechsel wird zu Aufrechterhaltung der Körpertemperatur gesteigert. Damit steigt der  $O_2$ -Verbrauch nach der Geburt sprunghaft von 6 - 8 ml/min/kg auf 15 - 20 ml/min/kg an.

Durch diesen gesteigerten Metabolismus und den Abbruch von Blutzufuhr und -abfluss über die Plazenta kommt es zum Anstieg der  $CO_2$ -Konzentration im Serum und das Atemzentrum in der Medulla oblongta wird stimuliert.

Für eine adäquate  $O_2$ -Aufnahme und  $CO_2$ -Eliminierung ist aber nicht nur der Atemanreiz sondern ein ausreichender Blutstrom über die Lunge notwendig.

Diese Umstellung erfolgt über eine Entkopplung der Strombahnen durch Schluss des Foramen ovale sowie des Ductus arteriosus.

Durch die Ventilation der Lungen mit Sauerstoff nimmt der pulmonale Gefäßwiderstand (PVR) primär ab, und der Blutfluss durch die PA nimmt zu. Wie weit dieser Vorgang auf mechanische oder biochemische Ursachen zurückzuführen ist, ist noch unklar [31]. Eine wichtige Rolle spielen die mechanischen Kräfte die mit der atmungsbedingten rhythmischen Entfaltung der Lunge zusammen hängen. Weitere entscheidende Vorgänge laufen auf Ebene des Endothels der Lungengefäße ab [28]. Beim menschlichen Neugeborenen erreicht der PVR nach ca. 2 Wochen das Niveau eines Erwachsenen. Der entscheidende und signifikanteste Abfall jedoch wird in den ersten 2 - 3 Lebenstagen beobachtet [52].

Zu Beginn ist die rechtsventrikuläre Auswurfraction bei gleich bleibenden pulmonalarteriellen Drücken noch etwas höher als die linksventrikuläre, was auf einen noch offenen DA hinweist. Weiterhin sinkt aber der PVR durch Ausdünnung der Muskelfaserschicht [33] und Rekrutierung pränatal verschlossener Lungenarterien [27]. Eine kleine Verbindung zwischen AO und PA über den DA existiert physiologischerweise und gemäß des Druckgradienten entsteht nun ein kleiner Links-Rechts-Shunt mit einer linksventrikulären Auswurfraction, welche die rechtsventrikuläre übersteigt. Der DA schließt sich beim gesunden, termingerechten Neugeborenen meist innerhalb der ersten 2 - 4 Tage funktionell [2, 47]. Innerhalb der ersten 1 - 3 Lebensmonate obliteriert er vollständig zum Ligamentum arteriosum.

Im systemarteriellen Kreislaufabschnitt kommt es durch den Verschluß der Umbilicalarterien zum Druckanstieg des systemvaskulären Widerstandes (systemic vascular resistance, SVR). Im linken Vorhof (LA) steigt der Druck um 2 - 3 mmHg und schließt somit das Foramen ovale zunächst funktionell durch eine Überlappung des Septum primum und des Septum secundum gegen den niedrigen Druck im rechten Vorhof (RA). Der Blutfluss über das Foramen ovale stoppt. Innerhalb eines halben Jahres verwachsen diese Anteile meist. Die Trennung in Lungenkreislauf und Körperkreislauf ist damit

vollendet. Bemerkenswert ist, dass bei ca. 25% aller Menschen das Foramen ovale lediglich funktionell verschlossen bleibt ohne zu verwachsen [26].

Die Anteile der Ventrikel am CVO sind nun angeglichen und werden nun als kardiales Auswurfvolumen (cardiac output = CO [ml/min/kgKG]) bezeichnet. Dieser CO steigt nach der Geburt um ca. 30 - 80%. Insbesondere die Auswurfleistung des linken Ventrikels (LV) steigert sich dabei um das drei- bis fünffache. Hierbei spielen die Umgebungstemperatur, die günstigeren intrathorakalen Druckverhältnisse nach der Geburt sowie der pränatale Hormonhaushalt eine Rolle.

Niedrige Umgebungstemperaturen steigern den Stoffwechsel und erhöhen den  $p\text{CO}_2$ , der maßgeblich für den Atemantrieb verantwortlich ist. Durch die Atmung bildet sich im Pleuraspalt und den perikardialen Räumen ein negativer Druck aus, der einen gesteigerten venösen Rückstrom und dadurch eine höhere Auswurfleistung zur Folge hat. Ebenso ist in den letzten Tagen vor Geburt eine gesteigerte Produktion von Cortisol zu verzeichnen, welche Auswirkungen auf das Wachstum und die Funktion des Myokards hat.

Nach der Geburt und mit Einsetzen der Atmung steigt der arterielle  $p\text{O}_2$  rasch von 25 - 28 mmHg auf 80 - 90 mmHg an und die Organperfusion nimmt bei gleicher Sauerstoffausschöpfung ab. Vor allem die Koronardurchblutung und die Durchblutung des Gehirns reagieren sehr sensitiv auf Veränderungen des arteriellen  $p\text{O}_2$  [54].

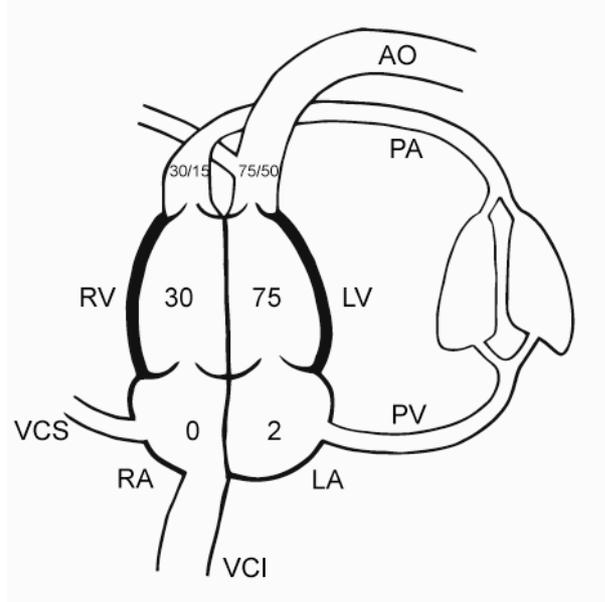


Abbildung 2.2 Schematische Darstellung der postnatalen Kreislaufverhältnisse im Lamm (modifiziert nach RUDOLPH [52]); Die Lunge ist entfaltet, der DA ist bereits verschlossen Die Zahlen in den skizzierten Hohlsystemen entsprechen den Drücken in [mmHg]

## 2.5 Pulmonale Hämodynamik bei angeborenen Herzfehlern mit aortopulmonaler Verbindung

Viele angeborene Herzfehler werden erst nach der Geburt symptomatisch, weil nach der Geburt die beschriebene Trennung bzw. „In-Serie-Schaltung“ von Lungen- und Körperkreislauf teilweise oder vollständig unterbleibt. Oft sind anatomische strukturelle Defekte dafür verantwortlich. In Tabelle 1.3 wurden bereits die häufigsten Herzfehler beschrieben.

Es kann zur Verbindung von Lungen- und Systemstrombahn zwischen Pulmonalarterie und Aorta (PDA) oder auf Vorhof- und/oder Kammerebene (ASD; VSD; univentrikuläres Herz) kommen. Beide Fälle führen zur Steigerung des Lungenblutflusses. Bereits oxygeniertes Blut rezirkuliert durch die Defekt aufgrund der Druckdifferenz von links (Systemkreislauf) nach rechts (Lungenkreislauf).

Es ist bekannt, dass durch diese Änderungen im Kreislauf die Endothelien stärkeren Scherkräften ausgesetzt sind, welche die Gefäßwände

beschädigen und zelluläre Mechanismen zu Reparatur und Proliferation in Gang setzten [11, 28].

Die pathophysiologischen Auswirkungen eines Links-Rechts-Shunts sind dabei immer von Größe, Lokalisation und Alter des Patienten abhängig.

Bei Patienten mit ASD kommt es dabei erst nach Reifung der Lungengefäße oft erst im Erwachsenenalter zum Shunt.

Patienten mit kleinem VSD ( $Q_{PA}/Q_{PS} < 1,5$ ) sind oft asymptomatisch und spontane Verschlüsse des Defektes werden bis zum 2. Lebensjahr in 75% der Fälle beobachtet [22, 54]. Patienten mit großem (nichtrestriktivem) VSD sind dagegen nahezu immer von Geburt an symptomatisch.

Beim PDA ist ebenfalls die Größe und die anatomische Konfiguration entscheidend. Er kommt gehäuft bei frühgeborenen Kindern mit ansonsten gesunden Herzen vor [38].

Erhöhter Blutfluss durch die Lungengefäße führt zur vermehrten Endothelbelastung und -schädigung. Reaktiv werden vasoproliferative und vasokonstriktive Mediatoren ausgeschüttet. Die Umbauvorgänge im Lungengefäßbett fixieren sich im Kindesalter. Durch die höhere Volumenbelastung und den erhöhten Widerstand in den Lungengefäßen kommt es zur Hypertrophie und Dilatation des rechten Ventrikels (RV). Übersteigt der PAP den SAP kommt es zur Shuntumkehr mit Recht-Links-Shunt. Dieser geht mit massiver Hypoxämie der Patienten einher. Es kommt zur Eisenmengerreaktion (siehe Abbildung 1.1).

## **2.6 Hämodynamik im Modell eines aortopulmonalen Shunt**

Wird die PA und die AO operativ verbunden ähnelt die geschaffene hämodynamische Situation der künstlichen Schaffung eines großen, persistierenden Ductus arteriosus (PDA) bzw einem selteneren Defekt des Septums zwischen Aorta und Pulmonalarterie. Der DA entspringt in direkter Verlängerung aus dem Pulmonalarterienstamm am Abgang der Pulmonalarterien. Er dient in utero wie bereits in 2.1 und 2.3 detailliert beschrieben als Verbindung zwischen PA und AO, um die nicht entfaltete

Lunge zu umgehen. Nach der Geburt kommt es in der Regel bald zum Verschluss.

Im vorliegenden Modell persistiert diese Verbindung über die Geburt hinaus wenngleich die künstliche Anastomose im Bereich des Pulmonalhauptstammes proximal des physiologischen DA, und proximal des Abgangs der brachiocephalen Gefäße liegt (Abbildung 3.4). In der Systole kommt es zum Blutfluss aus dem Hochdrucksystem des linken Herzens in das Niederdrucksystem des rechten Herzens. Ein Links-Rechts-Shunt entsteht. Der Blutfluß durch die Lunge ( $Q_p$ ) steigt gegenüber dem systemischen Blutfluß ( $Q_s$ ) an. In der Diastole hingegen fließt Blut über den Shunt in den Lungenkreislauf ab. Zudem kommt es durch den höheren  $Q_p$  zu einem erhöhten pulmonalvenösen Rückstrom in den LA und LV. Die Vorlast steigt und gemäß des Frank-Starling-Mechanismus kommt es zu erhöhtem linksventrikulären Auswurf.

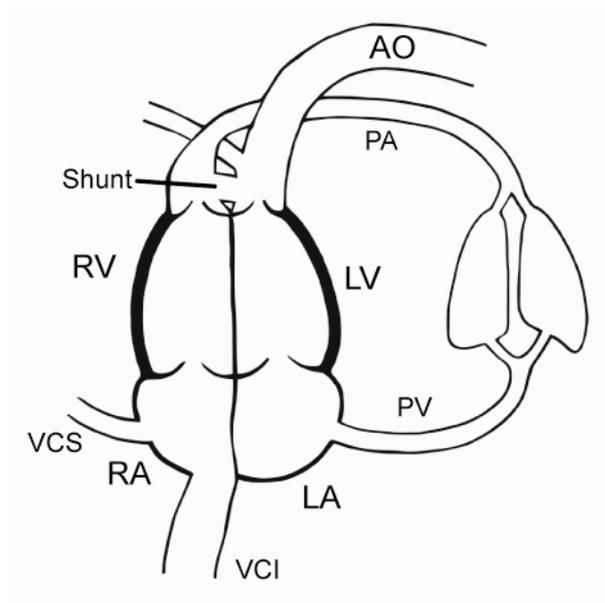


Abbildung 2.3 Schematische Darstellung des Kreislaufs im vorliegenden Modell mit aortopulmonalem Shunt (modifiziert nach RUDOLPH [52]) Das Foramen ovale und der DA sind (funktionell) verschlossen. Es besteht eine große Verbindung (Shunt) zwischen AO und PA proximal des Abgangs der brachiocephalen Gefäße;

Die intrauterine Platzierung des Shunts spielt eine entscheidende Rolle, da zum Zeitpunkt der intrauterinen Platzierung der PVR noch nicht atmungsbedingt abgefallen ist und der Kreislauf intrauterin weitgehend unbeeinflusst bleibt.

In vivo Studien mit postnataler chirurgischer Verbindung zwischen Aorta und Pulmonalarterie können nicht mit den hier gewonnenen Ergebnissen verglichen werden, und sind speziell im Falle der möglichst frühzeitigen hämodynamischen Evaluation weniger aussagekräftig.

## **2.7 Ziel der Studie**

Im vorliegenden Shuntmodell soll der postnatale Lungenblutfluss und der Blutdruck in den Lungenarterien erhöht werden.

Bislang wurden Studien an 3 Wochen (unveröffentlichte Daten der Arbeitsgruppe), 4 Wochen [3, 7, 20, 41, 45, 46] und 8 Wochen [4] alten Lämmern durchgeführt. Eine Studie zu 1 Woche alten Lämmern liegt ebenfalls vor [43].

Die vorliegende Untersuchung betrachtet die hämodynamische Auswirkung eines intrauterin platzierten aortopulmonalen Shunts im 3 Tage alten Lamm. Sie veranschaulicht die Kreislagsituation nach intrauterinen Anlage einer großen aortopulmonalen Gefäßanastomose unmittelbar nach Geburt an 7 operierten Lämmern und 8 Kontrolllämmern. Damit liegt der Untersuchungszeitpunkt genau in der entscheidenden Phase für die physiologische Abnahme des PVR (vgl. Kapitel 2.4).

Damit soll es gelingen, die Lücken in den bisherigen Beobachtungszeiträumen zu schließen.

Die Untersuchung ist aber auch Teilprojekt einer groß angelegten Studie.

Bei der hämodynamischen Untersuchung wurden Gewebeproben aus Herz und Lunge sowie Blutproben entnommen. Diese wurden als Gegenstand weiterführender Studien archiviert um auch auf mikroskopischer, immunhistochemischer und molekularbiologischer Ebene früheste Veränderungen zu identifizieren.

### **3 Material und Methodik**

#### **3.1 Versuchstiere**

Als Versuchstiere dienen Bayerische Bergschafe. Diese zeichnen sich durch ein azyklisches Brunstverhalten mit zweimaliger Lammung pro Jahr, sowie eine hohe Rate an Zwillingsgeburten aus. Das gewährleistet eine saisonal weitgehend unabhängige Versuchsplanung und es stehen ausreichend Kontrolllämmer zur Verfügung. Handelt es sich bei dem operierten Tier um einen Einling, wird möglichst ein Zwilling dessen operiertes Geschwistertier gestorben ist, bzw. ein spontan geborenes gesundes Lamm als Kontrolltier verwendet.

Zudem erlauben die Tiere aufgrund ihrer Größe die in Kapitel 3.2.3 beschriebene chirurgische Manipulation am fetalen Herzen. Spontangeburt als unmittelbare Folge des Eingriffes wie sie bei Schweinen gehäuft vorkommen, wurden bislang nicht beobachtet. Auch wird bei Schafen durch die intrauterine Manipulation kein Spontanabort eingeleitet [32].

In seinen Eigenschaften ähnelt das Bayerische Bergschaf der, in den USA vorwiegend verwendeten Rasse „Mixed Breed Western“ an der auch das Experiment etabliert wurde [45].

Die 2 bis 3 Jahre alten Muttertiere haben ein Lebendgewicht von ca. 70-80 kg. Im Zuchtbetrieb werden sie im Sommer auf Weiden und im Winter in einem Tiefstreustall in Gruppen vom 30 bis 40 Tieren gehalten. Im Stall herrschen Temperaturen von 10°C bis 20°C bei Unterdruckbelüftung. Die relative Luftfeuchtigkeit beträgt 60% bis 80%. Die Tiere werden mit Heu, Grassilage und Zuckerrübenschnitzel gefüttert. Wasser steht zur freien Verfügung. Mineralfutter wird zugefüttert.

Zwei bis drei Tage vor dem chirurgischen Eingriff werden die hochträchtigen Muttertiere in die Tierställe des Zentrums für präklinische Forschung des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München verbracht.

Die Tiere werden in Boxen von 3 m<sup>2</sup> gehalten. Die Stalltemperatur beträgt 20°C bis 23°C, die relative Luftfeuchte 60% bis 70%. Die Beleuchtung simuliert einen 12-Stunden Tag-Nacht-Rhythmus und ist damit den

Ruhezeiten der Tiere angepasst. Dabei herrscht Dunkelphase von 18:00 Uhr bis 6:00 Uhr. Zwischen 6:00 Uhr und 7:00 Uhr wird das Licht langsam bis auf 500 Lux hochgedimmt, zwischen 17:00 Uhr und 18:00 Uhr wieder langsam heruntergedimmt.

Die Schafe werden zweimal täglich mit einer Mischung aus Heupellets und Getreide gefüttert. Heu und Wasser stehen zur freien Verfügung.

Zwölf Stunden vor der Operation wird den Schafen das Futter entzogen. Wasser bleibt weiter frei zugänglich. Ziel ist es Nüchternheit zu gewährleisten und das Risiko einer Aspiration von Speiseresten bzw. Pansensaft zu minimieren. Nüchterne Tiere lassen sich präoperativ leichter auf den Fortschritt der Schwangerschaft untersuchen. Der Uterus ist bei Nüchternheit für chirurgische Manipulationen leichter zugänglich.

Nach der Operation erfolgt die Fütterung wieder wie oben beschrieben.

Nach Geburt der Lämmer werden diese mit ihren Müttern zum Schutz der Neugeborenen von den noch trächtigen Schafen getrennt. Die Lämmer werden bis zur hämodynamischen Untersuchung von der Mutter gesäugt.

Die Mutterschafe werden nach Abschluss des Beobachtungszeitraums von 3 Tagen und Euthanasie der Lämmer im Rahmen der hämodynamischen Untersuchung wieder in den Zuchtbetrieb verbracht.

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 des Deutschen Tierschutzgesetzes in der Fassung vom 22.05.1998 durch die Regierung von Oberbayern am 18.03.2003 genehmigt (Aktenzeichen 209.1/211-2531-93/03).

## 3.2 Experimentelles Vorgehen

### 3.2.1 Anästhesie der Mutterschafe

Die Prämedikation der nüchternen Mutterschafe (12 Stunden ohne Futter) erfolgt durch eine Injektion von 10ml Ketamin (ca. 15 mg/kgKG, i.m.; Narketan® 10, Chassot GmbH, Ravensburg) in die lange Sitzbeinmuskulatur. Nach Eintritt der Wirkung, wird das Schaf auf einem Rolltisch in den Operationsbereich gebracht. Dort wird nach Rasur und Desinfektion (Cutasept® F, Bode Chemie, Hamburg) ein Zugang in die rechte V.cephalica (BD Venflon™ Pro, 18 GA, Becton Dickinson, Sweden) gelegt, über den die Narkose eingeleitet wird. Propofol (2 - 4 mg/kgKG, i.v.; Propofol 2% MCT Fresenius, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg) wird im Bolus verabreicht. Sobald die Muskelspannung des Kiefers nachlässt, wird das Tier in Bauchlage intubiert und anschließend auf den Operationstisch gedreht und mechanisch beatmet (Servo-Ventilator 900D, Siemens-Eléma, Schweden) (Atemminutenvolumen: 10 - 15 ml/kgKG. Atemfrequenz: 17/min; PEEP: 5 mmHg; Sauerstoff: 30%). Zur Kontrolle der Parameter dient ein Narkosemonitor (Datex-Ohmeda 5/5 Type F-CM 1.00, Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland).

Die Narkoseaufrechterhaltung erfolgt über 1,7 - 2,3 l/min Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co.KG, Wiesbaden)

Ein weiterer venöser Zugang wird in die V.auricularis lateralis des rechten Ohres gelegt. (BD Venflon™ Pro, 22 GA, Becton Dickinson, Sweden) Nun stehen 2 venöse Zugänge zur Medikamentengabe und zum intraoperativen Flüssigkeitsausgleich zur Verfügung. Der Flüssigkeitsausgleich erfolgt über 10 ml/kgKG/h Vollelektrolytlösungen Ringer Lactat und Deltajonin (Deltajonin® und Ringer-Lösung®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen). Dabei wird über die ersten 500ml Ringer Lactat die erste Dosis der perioperativen antibiotischen Prophylaxe (1 Million I.E. Penicillin G und 40 mg Gentamycin) i.v. verabreicht (2 Millionen I.E., Penicillin G®, Jenapharm, Jena; Gentamycin 80 mg, Gencin®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen).

Am rechten Ohr wird ein arterieller Zugang gelegt, der eine regelmäßige Kontrolle der Blutgaswerte erlaubt (BD Venflon™ Pro, 22 GA, Becton Dickinson, Sweden).

Ein Gummischlauch wird als Magensonde gelegt, um die Aspiration möglicher Speisereste und Pansensaft zu verhindern und gleichzeitig ein Entweichen von Gasen zu erleichtern.

Die Überwachung der Narkosetiefe erfolgt klinisch über den Korneal- und den Lidreflex sowie hämodynamische Parameter wie plötzliche Blutdruck- und Pulsanstiege bzw. -abfälle. Im Bedarfsfall wird die Narkosetiefe über die Isofluranzufuhr korrigiert.

Die Kreislaufparameter werden über eine mechanische Blutdruckmanschette am linken Vorderbein (Memoprint®, © S + B medVETGmbH, Babenhausen) sowie das Pulsoxymeter des Narkosemonitors (Datex-Ohmeda 5/5 Type F-CM 1.00, Instrumentarium Corp., Helsinki, Finnland), dessen Sensor an der Zunge des Mutterschafs angebracht ist kontrolliert. Die Beatmung wird über eine graphische Darstellung der expiratorischen CO<sub>2</sub> Konzentrationen auf dem Narkosemonitor überwacht und bei Bedarf in den oben genannten Grenzen moduliert um einen expiratorischen CO<sub>2</sub> Partialdruck von ca. 35 - 41 mmHg aufrechtzuerhalten. Darüber hinaus werden Herz und Lunge klinisch auskultatorisch beurteilt.

Um eine sichere und in allen Operationen vergleichbare Narkose zu gewährleisten werden in Abständen von ca. 15 min Herzfrequenz, Blutdruck, expiratorische CO<sub>2</sub> Konzentration, aktueller Narkosegasflow und PEEP protokolliert. Unmittelbar nach Narkoseeinleitung und folgend im Abstand von ca. 45 min sowie vor Beendigung der Narkose wird eine Blutgasanalyse einer arteriellen Blutprobe durchgeführt (Synthesis 10, Instrumentation Laboratory GmbH, Kirchheim). Dazu wird aus dem Zugang in der A. auricularis mit einer heparinisierten 1ml Spritze eine Blutprobe entnommen. Bei Azidosen mit einem Basendefizit (baseexcess; BE) von mehr als -4 wird mit Bikarbonat (Natriumhydrogencarbonat 8,4% Infusionslösungskonzentrat, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) gemäß Gleichung 3.1 gegengesteuert.

Gleichung 3.1

$$\text{Natriumbikarbonat}[ml] = 0,3 \cdot BE \cdot kgKG$$

### 3.2.2 Operationsvorbereitung

Die Mutterschafe werden nach Einleitung der Anästhesie und Lagerung in Rückenlage am Bauch geschoren. Das Operationsgebiet wird desinfiziert (Cutasept® F, Bode Chemie, Hamburg), und anschließend wird das Tier unter Einhaltung steriler Kautelen abgedeckt.

### 3.2.3 Chirurgisches Vorgehen zur intrauterinen Anlage eines aortopulmonalen Shunts

Die Anlage des aortopulmonalen Shunts erfolgt nach einer bereits etablierten Methode [45].

Entlang einer, mit Lokalanästhetikum (Lidocainhydrochlorid, 5ml, s.c., Xylocain® 2%, AstraZeneca, Wedel) infiltrierten Linie, wird die Haut von Bauchnabel bis Euter mit einem Skalpell eröffnet. Das Unterhautfettgewebe wird elektrothermisch (ME 400, Firma Martin, Tuttlingen, Deutschland) präpariert und die Bauchdecke im Bereich der Linea alba vom Nabel bis zu Euterband eröffnet.

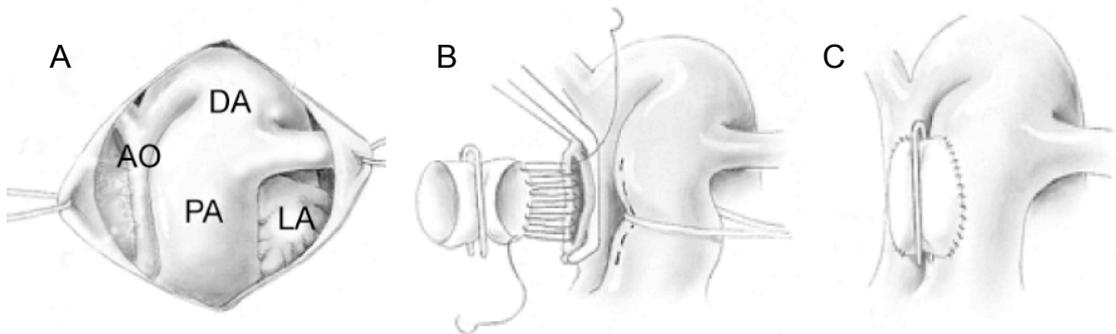
Durch diese Öffnung wird ein Uterushorn aus dem Abdomen in das Operationsfeld verlagert und palpatorisch anhand markanter Strukturen wie Schultergürtel und Kopf die Ausrichtung des Fötus bestimmt.

Muß das Lamm für eine bessere operative Zugänglichkeit rotiert werde, ist nach Beendigung der Operation unbedingt auf ein Zurückbringen in die Ausgangsposition zu achten, um Komplikationen im natürlichen Geburtsvorgang vorzubeugen.

Bei Zwillingsschwangerschaften wird der leichter zugängliche Fötus operiert. Sind Schulterblatt und Wirbelsäule identifiziert und liegt das Lamm auf seiner rechten Seite, wird der Uterus über dem fetalen Schulterblatt eröffnet, und

durch die Inzision das linke Vorderbein und der Thorax des Lammes exponiert. Die Extremität wird in Streckung fixiert und zusammen mit dem Uterus mit warmen, feuchten, sterilen Tüchern abgedeckt.

Im 3. oder 4. Intercostalraum links erfolgt die Thorakotomie des Lammes. Das Perikard wird entlang des pulmonalarteriellen Hauptstammes eröffnet und mit Haltenähten an der Haut des Lammes fixiert (2-0 Vicryl®, Ethicon®, Johnson&Johnson Intl., Belgien), um einen bestmöglichen Zugang zum Operationssitus zu gewährleisten. Abbildung 3.1 illustriert schematisch das im Folgenden beschriebene Vorgehen.



*Abbildung 3.1 Schematische Darstellung des chirurgischen Vorgehens (modifiziert nach REDDY [45]); A: Intraoperativer Situs nach Thorakotomie des Fötus, AO = Aorta; DA = Ductus arteriosus; PA = Pulmonalarterie; LA = Linker Vorhof. B: Anastomosierung der Gefäßprothese an die ausgeklemmte AO, C: Aortapulmonaler Shunt vor Entfernen der Gefäßclips*

Die AO und die PA werden freigelegt und die PA wird mit einer Gefäßschlinge umschlungen. Die AO ascendens wird seitlich mit einer Klemme teilweise ausgeklemmt, so dass ein ausreichender Blutfluss neben der Klemme gewährleistet ist.

Mit einem spitzen Skalpell wird dieser ausgeklemmte Bereich durch Stichinzision eröffnet und mit feiner Schere und Rückwärtsschere nach vorne und hinten auf die gewünschte Länge erweitert (Abbildung 3.3 – A). Ein Polytetrafluoroethylen Gefäßprothese (Durchmesser 8 mm; Gore-Tex®, W.L. Gore and Assoc, USA) wird auf eine Länge von ca. 2-3 mm gekürzt (Abbildung 3.2) und es werden zwei Gefäß-Clips zum vorübergehenden

Verschluss der Gefäßprothese platziert. Diese wird in fortlaufender Nahttechnik mit der AO ascendens anastomosiert (7-0 Prolene®, Ethicon® Johnson&Johnson Intl., Belgien) (Abbildung 3.1 – B, Abbildung 3.3 – B).



*Abbildung 3.2 8mm Polytetrafluoroethylen-Shunt (Gore-Tex®; W.L. Gore and Assoc., USA)  
(Fotografie der Arbeitsgruppe)*

Danach kann die Gefäßklemme an der AO langsam geöffnet werden. Um eine Blutung an der Anastomose minimal zu halten und die Koagulation im Nahtbereich zu beschleunigen wird der Operationsbereich locker mit feinen Mullbindenstreifen abgestopft und stetig mit warmer Elektrolytlösung (Ringer-Lösung®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) gespült.

Nach dem gleichen Prinzip wird die PA teilweise ausgeklemmt und an ihrer posterioren Wand eröffnet. In fortlaufenden Nahttechnik erfolgt die Anastomosierung mit der freien Seite der Gefäßprothese (7-0 Prolene®, Ethicon® Johnson&Johnson Intl., Belgien). (Abbildung 3.3 - C)

Auf oben beschriebene Weise wird auch hier die Klemme entfernt. (Abbildung 3.1 - C) Die Clips werden vom Kunststoffshunt abgezogen und durch leichte Kompression bzw. Anlupfen mit einem Fadenrest wird das Shunt-Lumen vollständig eröffnet. Abbildung 3.3 - D zeigt das Resultat einer intrauterinen Shunt-Anlage.

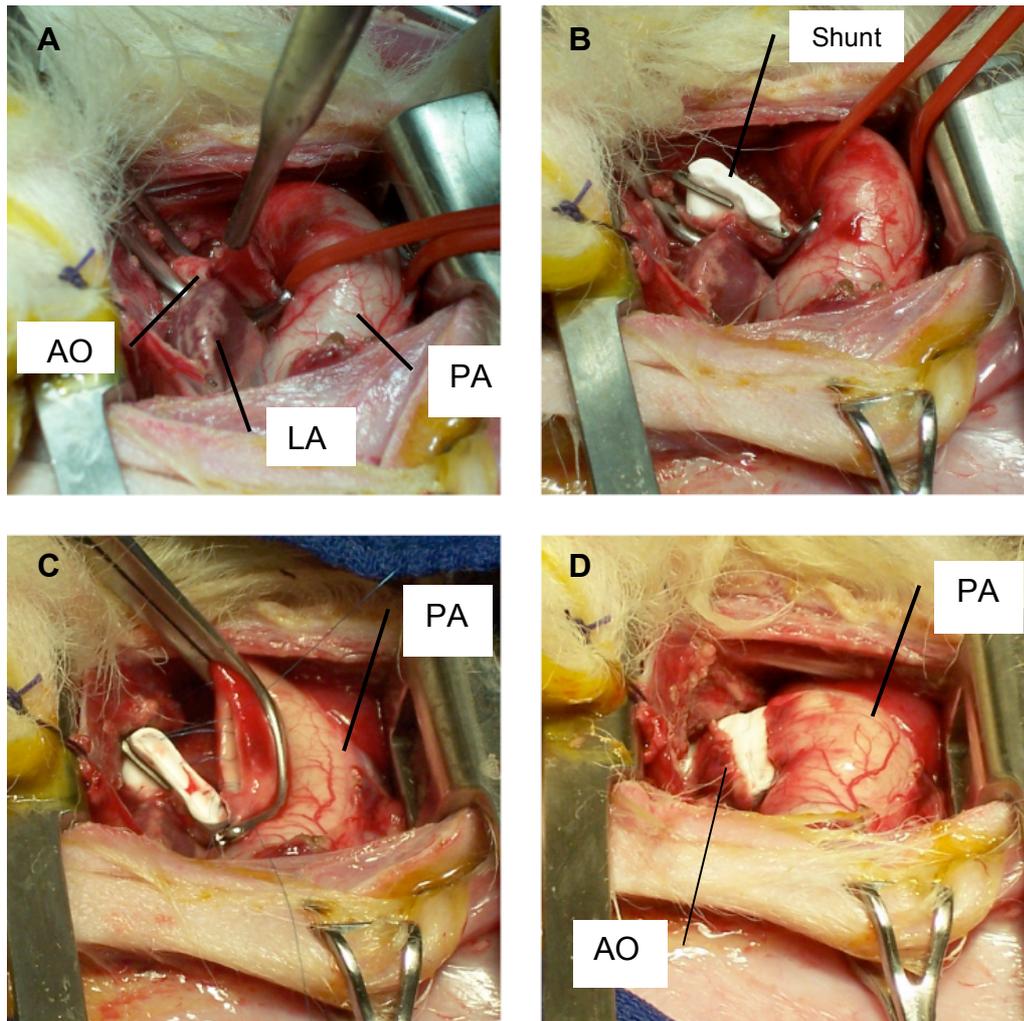


Abbildung 3.3 Chirurgisches Vorgehen zur intrauterinen Platzierung eines aortopulmonalen Shunts A: Die Pulmonalarterie (PA) wird mit Hilfe einer Gefäßumschlingung zur Seite gehalten und die, in der Tiefe liegende Aorta (AO) wurde inzidiert. LA=linker Vorhof B: Der Shunt wurde aortal anastomosiert. C: Der Shunt wird an der ausgeklemmten und bereits eröffneten Pulmonalarterie anastomosiert. D: Resultat nach Entfernen der Gefäßclips (Fotografien der Arbeitsgruppe)

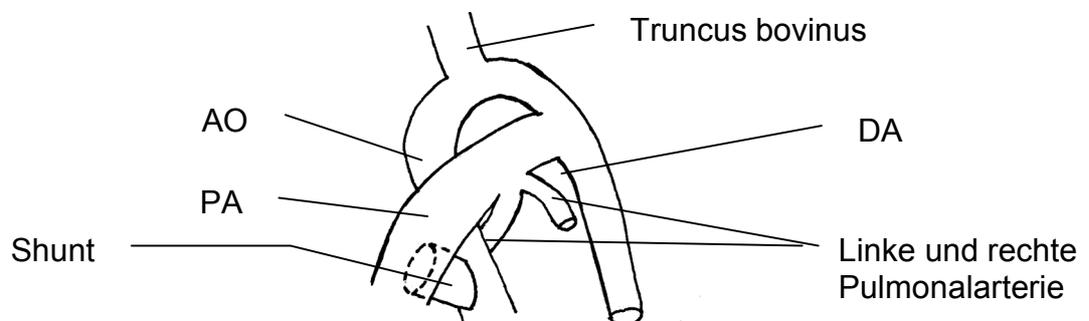


Abbildung 3.4 Schemazeichnung der Shuntanlage: AO und PA wurden proximal des Truncus bovinus und proximal der Abgänge der Pulmonalarterien sowie des DA verbunden; (Eigene Skizze)

Die Thorakotomiewunde des Lammes wird schichtweise mit resorbierbarem Nahtmaterial verschlossen (2-0 Vicryl®, Ethicon®, Johnson&Johnson Intl., Belgien) Die Adaptation der fetalen Haut erfolgt über eine fortlaufende nicht resorbierbare Naht (2-0 Prolene® Ethicon® Johnson&Johnson Intl., Belgien). Die vordere Extremität wird wieder in den Uterus gesteckt und dieser wird mit reichlich lauwarmer, steriler Flüssigkeit (Ringer-Lösung®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) aufgefüllt, um intraoperativ verlorengegangene Amnionflüssigkeit zu ersetzen. Direkt intrauterin wird auch der zweite Teil der perioperativen Antibiose (1 Millionen .I.E., Penicillin G®, Jenapharm, Jena; Gentamycin 40 mg, Gencin®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) verabreicht.

Die Uteruswunde wird mit einer fortlaufenden und einer eingestülpten Naht mit resorbierbarem Nahtmaterial (2-0 Vicryl®, Ethicon®, Johnson&Johnson Intl., Belgien) versorgt. Unter Berücksichtigung der Lage vor der Exposition wird der Uterus wieder in den Bauchraum des Mutterschafes zurückverlagert. Das Peritoneum des Schafes wird in fortlaufender Technik mit einem Vicrylfaden verschlossen (2 Ethibond®, Ethicon®, Johnson&Johnson Intl., Belgien). Es folgen einen fortlaufende Naht des Unterhautfettgewebes (2-0 Vicryl®, Ethicon®, Johnson&Johnson Intl., Belgien) und eine fortlaufende Intrakutannaht der mütterlichen Bauchhaut (2-0 Prolene® Ethicon® Johnson&Johnson Intl., Belgien). Die Hautnaht und die Umgebung werden mit einem wasserdampfpermeablen Sprühverband (Smith & Nephew, OpSite, England) abgedeckt.

Nach Abstellen der Isoflurannarkose wird das Schaf sobald eine suffiziente Eigenatmung zu erkennen ist, extubiert und in den Stall zurückgebracht. Dort wird es bis zum Abklingen der Narkosewirkung beobachtet. Die erste Dosis der postoperativen Schmerzmedikation von 1mg Buprenorphin (0,005 mg/kgKG, i.m., Temgesic®, Essex Pharma) wird i.m. verabreicht sobald das Schaf selbstständig sicher steht.

### 3.2.4 Postoperative Versorgung der Muttertiere

Die Muttertiere erhalten unmittelbar nach der Operation und am Folgetag eine standardisierte Schmerzmedikation von 1 mg Buprenorphin (ca. 0,005 mg/kgKG, i.m., Temgesic®, Essex Pharma) i.m. sowie über 2 Tage eine antibiotische Behandlung mit jeweils 2 Mio I.E. Penicillin und 80 mg Gentamycin i.m. (2 Millionen I.E., Penicillin G®, Jenapharm, Jena; Gentamycin 80 mg, Gencin®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen)

Die Tiere werden täglich untersucht. Die Bauchwunde wird inspiziert und auf Schmerzhaftigkeit und eventuelle Nahtdehiszenzen sowie Bruchpforten überprüft. Herz- und Atemfrequenz werden bestimmt. Die Temperatur wird rektal mit einem handelsüblichen elektronischen Fieberthermometer gemessen. Bei Anzeichen einer Infektion (Hauptkriterium: rektale Temperatur >40°C) und/oder Schmerzen müssen Antibiose und Schmerztherapie gegebenenfalls angepasst werden.

### 3.2.5 Postnatale Versorgung der Lämmer

Die Lämmer der operierten Schafe kommen wenige Tage nach der Operation spontan zu Welt. Nur bei offensichtlichen Geburtskomplikationen die das Wohl von Mutter oder Jungtier gefährden wird von Seiten der Versuchsleitung in den Geburtsprozess eingegriffen. Dabei wird versucht den natürlichen Geburtsvorgang beispielsweise bei Lämmern in Steißlage manuell zu unterstützen.

Nach Geburt werden die Lämmer täglich gewogen. Die tägliche Gewichtszunahme der Lämmer liegt bei ca. 100g/d. Atem- und Herzfrequenz werden dokumentiert. Findet die Geburt innerhalb des analgetischen und antibiotischen Therapiezeitraumes des Mutterschafes statt, so erhalten die Lämmer ebenfalls noch Buprenorphin zur Analgesie (0,005 mg/kgKG, i.m., Temgesic®, Essex Pharma), Penicillin (50000 IE/kgKG i.m, Penicillin G®, Jenapharm, Jena) und Gentamycin (2 mg/kgKG i.m., Gencin®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) zur antibiotischen Versorgung. Einmalig erhalten sie 100 mg dreiwertiges Eisen i.m. (Myofer®100, Eisen(III)-

hydroxid-Dextran-Komplex, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim). Der Untersuchungszeitraum der beschriebenen Serie beträgt 3 Tage. Danach werden die Lämmer hämodynamisch untersucht.

In Kapitel 5. wird Bezug auf weitere Versuchsserien mit längerem Untersuchungszeitraum genommen. Hier wird Eisen wöchentlich substituiert.

### **3.2.6 Anästhesie der Lämmer**

Zur Anästhesievorbereitung werden den 3 Tagen alten Lämmern in die linke und rechte V. cephalica antebrachi Zugänge gelegt (BD Venflon™ Pro, 22 GA, Becton Dickinson, Sweden). Die Tiere werden mit Diazepam sediert (0,2 mg/kgKG, i.v., Diazepam-Lipuro®, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) und in das Deutsche Herzzentrum München, Abteilung für experimentelle Herzchirurgie der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie gebracht. Nach Lokalanästhesie der Haut des Ohres (EMLA® Creme, Astra Zeneca GmbH, Wedel) wird ein intraarterieller Katheter (BD Venflon™ Pro, 22 GA, Becton Dickinson, Sweden) an der A. auricularis gelegt und an einen Druckabnehmer zur invasiven Blutdruckmessung (Notocord® Systems, Croissy sur Seine, Frankreich) angeschlossen.

Nach der Gabe von Ketamin (2 mg/kgKG i.v., Narketan® 10, Chassot GmbH, Ravensburg) erfolgt die Injektion von Propofol (2-4 mg/kgKG, i.v.; Propofol 1% MCT Fresenius, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg).

Das Lamm wird in Rückenlage endotracheal intubiert (6,0 mm Endotrachealtubus, Portex ID 6.0 Soft-Seal, Portex) und mechanisch beatmet (Atemminutenvolumen: 10 ml/kgKG; Atemfrequenz: 30/min; Inspiratorische Sauerstoffkonzentration: 21%).

Die Muskulatur wird vor Eröffnung des Thorax mit Pancuroniumbromid (0,1 mg/kgKG i.v.; Pancuronium-ratiopharm, ratiopharm GmbH, 89079 Ulm) relaxiert.

Die Aufrechterhaltung der Anästhesie erfolgt gewichtadaptiert mit Ketamin (0,3 mg/kgKG, i.v., Narketan® 10, Chassot GmbH, Ravensburg) und

Diazepam (Diazepam-Lipuro®, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) über Perfusoren.

Als Infusion erhalten die Tiere Ringer-Lösung (100ml/kg\*h, i.v.; Ringer-Lösung®, DeltaSelect GmbH, Pfullingen).

Das Monitoring erfolgt mittels Kapnographie (Capnomac Ultima ULT-S-33-01, Datex Ohmeda, Duisburg) und Pulsoxymetrie (Pulse Oximeter, Nellcor Inc., Hayward USA). Es wird in regelmäßigen Abständen eine Blutgasanalyse (Corning 158 pH/Blutgas Analysator, Corning Medical and Scientific, Medfield, MA) durchgeführt. Bei Bedarf wird eine Azidose gemäß Gleichung 3.1 korrigiert. Die Überwachung der Körpertemperatur erfolgt kontinuierlich über eine rektale Temperatursonde. Eine invasive Blutdruckmessung erfolgt zunächst über die A. auricularis, anschließend über einen Katheter in der Aorta descendens (siehe 3.2.7).

### **3.2.7 Vorbereitung der Hämodynamischen Untersuchung der Lämmer**

Zur Hämodynamischen Untersuchung steht ein Computer zur Verfügung. Dieser ist mit weiteren Hardwarekomponenten wie Druckwandler (Stratham Instruments, Hato Rey, USA) und Verstärkermodul für eine Ultraschallflusssonde verbunden. Eine spezielle Software (Notocord-hem® 3.5, 2002 Edition, Notocord® Systems, Croissy sur Seine, Frankreich) erlaubt die kontinuierliche grafische Darstellung sowie die fortlaufende Aufzeichnung sämtlicher für die Untersuchung erforderlichen hämodynamischen Parameter.

Die Lämmer werden im Bereich der linken Leiste, des rechten Halses sowie des gesamten Brustkorbs geschoren und desinfiziert (Cutasept® F, Bode Chemie, Hamburg).

Die linke A. inguinalis externa wird operativ freigelegt und ein Polyurethankatheter wird bis in die AO descendens vorgeschoben. Dieser Katheter wird mit einem Druckwandler des Notocord® - Systems verbunden um eine kontinuierliche Kontrolle und Aufzeichnung von Herzfrequenz und

systemarteriellen Mitteldruck (mean systemic arterial pressure, mSAP) zu gewährleisten.

Im Halsbereich wird die V. jugularis präpariert und ein vierlumiger Polyurethankatheter (Vierlumiger zentraler Venenkatheter; Polyurethan; 2,9mm Durchmesser; 20 cm Länge; Arrow® Deutschland GmbH; Erding) bis in den rechten Vorhof vorgeschoben und fixiert. Seine Lage kann nach erfolgter Thorakotomie leicht unter Sicht optimiert werden. Über den distalen Schenkel wird mittels eines Druckwandlers der Druck im rechten Vorhof überwacht. Über die verbleibenden Schenkel werden die Narkotika und Flüssigkeit verabreicht.

Es erfolgt eine Thorakotomie durch komplette Sternotomie. Anschließend wird das Perikard eröffnet und die linke PA freigelegt. Um diese wird eine Ultraschallflusssonde (Transonic Systems, Inc., Ithaca, NY) gelegt um den pulmonalarteriellen Blutfluß messen zu können. Auch diese Sonde ist mit dem Notocord® System verbunden.

Am linken Vorhof wird eine Tabaksbeutelnaht (5-0 Prolene®, Ethicon® Johnson&Johnson Intl., Belgien) vorgelegt. Nach Stichinzision wird ein Katheter im Vorhof platziert, durch die vorgelegte Naht fixiert und anschließend mit einem weiteren Druckwandler verbunden.

Nach dem gleichen Verfahren wird ein Katheter in den Hauptstamm PA distal der künstlichen Gefäßanastomose platziert. Bei Kontrolltieren erfolgt dies distal des DA. Mit dem Anschluß an das Notocord®-System ist eine pulmonalarterielle Druckmessung möglich.

Die invasiv gemessenen Parameter dienen im weiteren Verlauf der Untersuchung auch zum Narkosemonitoring.

Abbildung 3.5 zeigt das Setup eines vollständig instrumentierten Lammes.

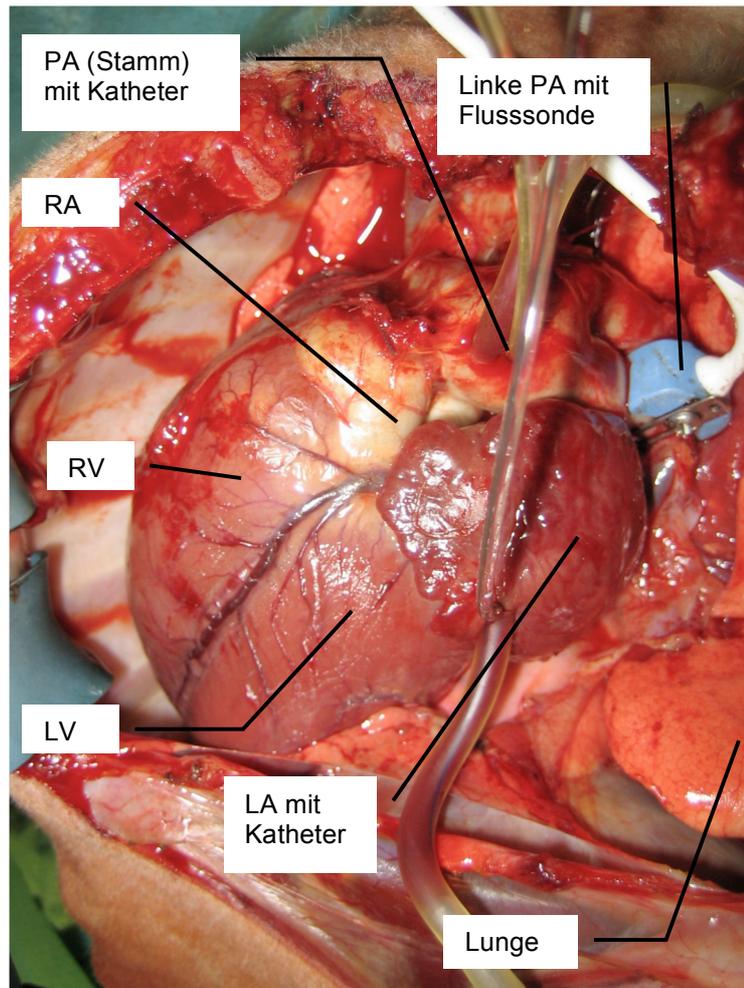


Abbildung 3.5 Eröffneter Lammthorax: Die Katheter aus *V. jugularis externa* und *A. femoralis* liegen jeweils intraatrial bzw. intraventrikulär; zu sehen sind die Katheter im Hauptstamm der PA und im LA sowie die Flusssonde um der linken PA (Fotografie der Arbeitsgruppe); die Spitze des dicken Pfeiles weist nach kranial;

### 3.2.8 Hämodynamische Untersuchung der 3 Tage alten Lämmer

Nach Stabilisierung aller hämodynamischer Parameter und einer Erholungsphase erfolgt die so genannte Baselinemessung. Hierbei werden die im Folgenden genannten hämodynamischen Parameter über einen Zeitraum von ca. 10 min ohne Manipulation oder Intervention von Außen gemessen.

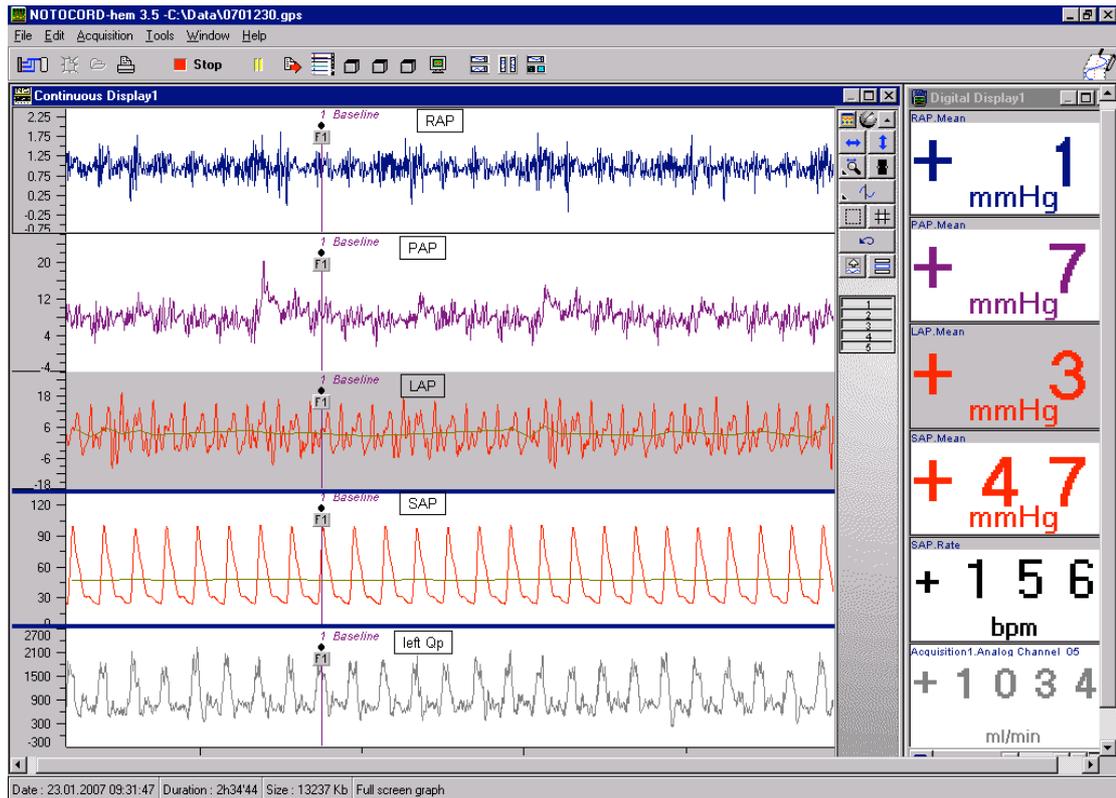


Abbildung 3.6 Screenshot des Notocord-hem® Software-Programms: In den linken  $\frac{3}{4}$  des Bildes werden die Druckkurven von RAP, PAP, LAP, SAP und die Flusskurve von Qp (von oben nach unten) in Echtzeit dargestellt; rechts werden die jeweils aktuellen Mitteldrücke bzw. der pulmonalarterielle Blutfluss in Zahlenwerten dargestellt

Die Untersuchung der hämodynamischen Parameter erfolgt in Shunt- und Kontrollgruppe auf gleiche Art und Weise. Die Drücke werden über intravasale Polyurethankatheter die mit einem Druckumwandler (Statham P23Db Druckmesswandler; Statham Instruments, Hato Rey, PR, USA) verbunden sind kontinuierlich gemessen und in Notocord® aufgezeichnet. Die Druckabnehmer werden auf Höhe der Herzspitze des instrumentierten Lammes auf Null kalibriert.

Die direkte grafische Auswertung erfolgt in Echtzeit auf dem Bildschirm über das Notocord®-System (Abbildung 3.6). Die Drücke werden neben den Druckkurven als errechnete Mitteldrücke in Millimeter Quecksilbersäule [mmHg] angegeben. Alle erfassten Werte sind gemittelte Werte über den Zeitraum von einer Minute, aus dem steady-state-Bereich, in dem die Baselinemessung stattfindet.

### **3.2.9 Euthanasie der Versuchstiere**

Nach abgeschlossener hämodynamischer Untersuchung und Entnahme der Blutproben werden die Lämmer während der Narkose mit 40 ml KaCl i.v. (Kaliumchlorid 7,45% Infusionslösungskonzentrat, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) euthanasiert. Herz und Lunge werden entnommen und Gewebe- sowie Blutproben für weitere Untersuchungen konserviert.

## **3.3 Untersuchte Parameter**

### **3.3.1 Mittlerer pulmonalarterieller Druck (mean pulmonary arterial pressure, mPAP)**

Der mittlere Druck in der PA (mPAP) erfolgt invasiv. Der Katheter liegt direkt in den Pulmonalarterienhauptstamm distal der Gefäßprothese. Bei Kontrolltieren wird er distal der obliterierten physiologischen aortopulmonalen Verbindung (DA) platziert. Der Druck wird in Millimeter Quecksilbersäule angegeben [mmHg].

### **3.3.2 Mittlerer linksatrialer Druck (mean left atrial pressure, mLAP)**

Der Katheter wird nach Inzision direkt in den linken Vorhof eingeführt und fixiert. Die Technik der Messung des mittleren Druckes im LA (mLAP) erfolgt wie in 3.2.8 beschrieben. Die Einheit ist [mmHg].

### 3.3.3 Mittlerer rechtsatrialer Druck (mean right atrial pressure, mRAP)

Die Technik der Messung des mittleren Druckes im RA (mRAP) erfolgt über einen vierlumigen Katheter, der über die Vena jugularis externa bis in den rechten Vorhof vorgeschoben und anschließend dem Druckwandler verbunden wird. Die Einheit ist [mmHg].

### 3.3.4 Systemarterieller Druck (systemic arterial pressure, SAP)

Hierfür wird der Katheter über die Arteria femoralis wie unter 3.2.7 beschrieben bis in die AO descendens eingeführt. Gemessen werden der systolische (sSAP), der diastolische (dSAP) und der mittlere (mSAP) systemarterielle Druck. Die Einheit ist jeweils [mmHg].

### 3.3.5 Pulsamplitude (pulse pressure, PP)

Die Pulsamplitude stellt die Druckamplitude der Pulskurve dar. Sie errechnet sich aus der Differenz von sSAP und dSAP (Gleichung 3.2).

*Gleichung 3.2*

$$PP = sSAP - dSAP$$

### 3.3.6 Verhältnis von mittleren pulmonalarteriellen Druck zum mittleren systemarteriellen Druck (mPAP:mSAP)

Dieses Verhältnis wird aus dem mittleren pulmonalarteriellen Druck (mPAP) dividiert durch den mittleren systemarteriellen Blutdruck (mSAP) berechnet.

### 3.3.7 Pulmonaler Druckgradient

Der pulmonale Druckgradient beschreibt den Druckunterschied zwischen dem LA und der PA. Er berechnet sich aus der Differenz zwischen dem mittleren pulmonalarteriellen Druck und dem mittleren linksatrialen Druck (Gleichung 3.3). Die Einheit ist [mmHg]. Der Pulmonale Druckgradient entspricht bezogen auf das Ohm'sche Gesetz der Spannung in der Berechnung des PVR (vgl. Gleichung 3.4).

Gleichung 3.3

$$\text{Pulmonaler Druckgradient} = mPAP - mLAP$$

### 3.3.8 Herzfrequenz (HF)

Die Herzfrequenz wird aus der Pulscurve der invasiven arteriellen Druckmessung über das Notocord®-System berechnet. Die Einheit ist die Anzahl der Schläge pro Minute (beats per minute, [bpm]).

### 3.3.9 Blutfluss durch die Arteria pulmonalis (Qp, Qp/kgKG)

Der Blutfluss durch die linke PA (Qp) wird mit einer Ultraschall Flusssonde (Transonic® Flowprobe, Transonic Systems, Inc., Ithaca, NY, USA) gemessen. Da das Blutvolumen vom Körpergewicht abhängig ist, wird für jedes Tier der absolute pulmonale Blutfluß (Qp) auf pro Kilogramm Körpergewicht umgerechnet (Qp/kgKG). Die Einheit des Flusses ist [ml/min] bzw. [ml/min\*kg].

### 3.3.10 Pulmonalvaskulärer Widerstand (pulmonary vascular resistance, PVR)

Der pulmonalvaskuläre Widerstand wird nach dem Poiseuille'schen und Ohm'schen Gesetzes das Verhältnis der Druckdifferenz aus PA (mPAP) und LA (mLAP) zum Fluß in der linken PA bezogen auf das Körpergewicht (Qp/kg) definiert. In der vorliegenden Studie wird so der PVR des linken Lungenflügels berechnet. Die Einheit ist [mmHg/ml\*min\*kg].

Gleichung 3.4

$$PVR = \frac{mPAP - mLAP}{Qp/kg}$$

### 3.3.11 Systemvaskulärer Widerstand (systemic vascular resistance, SVR)

Der systemvaskuläre Widerstand errechnet sich aus dem Quotienten der Druckdifferenz von AO descendens (mSAP) und RA (mRAP) und Blutfluss im systemischen Blutkreislauf (Qs). (Gleichung 3.5). Der Qs berechnet sich

dabei aus dem ermittelten Ergebnis von  $Q_p/Q_s$ . Um den gesamten Lungenblutfluß abzuschätzen wird der mittels Ultraschallsonde gemessene Fluss über die linke Pulmonalarterie ( $Q_{lp}$ ) durch 0,4 geteilt, da die Perfusion des linken Lungenlappens nur ca. 40% beträgt. (Gleichung 3.6). Die Einheit ist [mmHg/ml\*min\*kg].

Gleichung 3.5

$$SVR = \frac{(mSAP - mRAP)}{(Q_{lp}/kg)/0,4/(Q_p/Q_s)}$$

Gleichung 3.6

$$Q_s = Q_{lp}/0,4/(Q_p/Q_s)$$

### 3.3.12 Verhältnis von Lungenblutfluss zum systemischen Blutfluss ( $Q_p/Q_s$ )

An die zehnminütige Baselinemessung schließt sich die Messung des Verhältnisses von Lungenblutfluss ( $Q_p$ ) zu systemischen Blutfluss ( $Q_s$ ) an.

Dafür werden zeitgleich Blut mit heparinisierten 1ml Spritzen aus dem linken Atrium (LA), dem rechten Ventrikel (RV), der Pulmonalarterie (PA) distal der Gefäßanastomose und der Aorta (AO) descendens entnommen. Die Probenentnahme erfolgt über die liegenden Katheter. Die Probe aus dem RV wird durch direkte Punktion abgenommen mit einer Einmalkanüle. Die Sauerstoffsättigungen dieser Proben mit einem Hemoximeter (OSM 2, Radiometer, Copenhagen, Dänemark) bestimmt.

Das Verhältnis von Lungenblutfluss ( $Q_p$ ) zum Systemblutfluss ( $Q_s$ ) wird nach dem Fick'schen Prinzip errechnet. Es errechnet sich wie in Gleichung 3.7 beschrieben aus dem Quotienten von Sauerstoffausschöpfung im Systemkreislauf und Sauerstoffausschöpfung im Lungenkreislauf.

Gleichung 3.7

$$\frac{Q_p}{Q_s} = \frac{sO_{2AO} - sO_{2RV}}{sO_{2LA} - sO_{2PA}}$$

### **3.4 Statistische Verfahren**

#### **3.4.1 Berechnungen**

Die Ergebnisse aus der hämodynamischen Untersuchung der Shunttiere wurden mit der Kontrollgruppe verglichen.

Die statistische Auswertung erfolgt mit dem Statistikprogramm SPSS (SPSS Version 15.0; SPSS Inc., Chicago, USA). Das Signifikanzniveau  $p$  im Vergleich der gemessenen Parameter beträgt jeweils 5% (0,05). Aufgrund der geringen Versuchstierzahlen wird in allen Vergleichen die exakte (zweiseitige) Signifikanz bestimmt.

Die jeweiligen Gruppen werden hinsichtlich der Zielparameter verglichen. Zunächst für jede Gruppe Mittelwert, Standardabweichung, Median, Minimum und Maximum bezogen auf die jeweilige Fallzahl ( $n$ ) berechnet.

Für den Vergleich der Shuntgruppe mit der Kontrollgruppe werden die Absolutwerte des jeweils untersuchten Parameters in Relativwerte umgerechnet und die Basalwerte auf jeweils 100% gesetzt. Die beiden Gruppen werden mit dem Mann-Whitney U-Test, einem parameterfreien statistischen Test für unabhängige Variablen, verglichen. Dieser Test dient zur Überprüfung der Signifikanz in der Übereinstimmung zweier Verteilungen, also ob zwei unabhängige Verteilungen A und B (zum Beispiel eine unbeeinflusste und eine beeinflusste) zur selben Grundgesamtheit gehören.

#### **3.4.2 Grafische Veranschaulichung**

Die vorliegenden Ergebnisse werden als Box Plots dargestellt. Abbildung 3.7 stellt beispielhaft das verwendete BoxPlot Modell dar. Die Y-Achse die jeweiligen gemessenen Werte auf. Auf der X-Achse wird Kontrollgruppe gegen Shuntgruppe aufgetragen. Diese Art der Darstellung veranschaulicht auf den ersten Blick Median, Quantilen und Maximalwertverteilung. Extremwerte und Ausreißer werden gesondert gekennzeichnet.

Innehalb der Spanne der Whisker (Antennen) liegen 100% der erhobenen Messwerte. Kommen in einer Messreihe keine Ausreißer oder Extremwerte

(Werte die mehr als ein 1,5-faches des Interquartilenabstandes IQR betragen) vor, entsprechen die Whisker dem Minimal- bzw. Maximalwert. Innerhalb des Kastens (25%-Quartile) liegen 50% der erhobenen Daten. Der dicke Balken veranschaulicht den Median.

Abbildung 3.7 zeigt beispielhaft die Interpretation eines Box-Plot Diagramms.

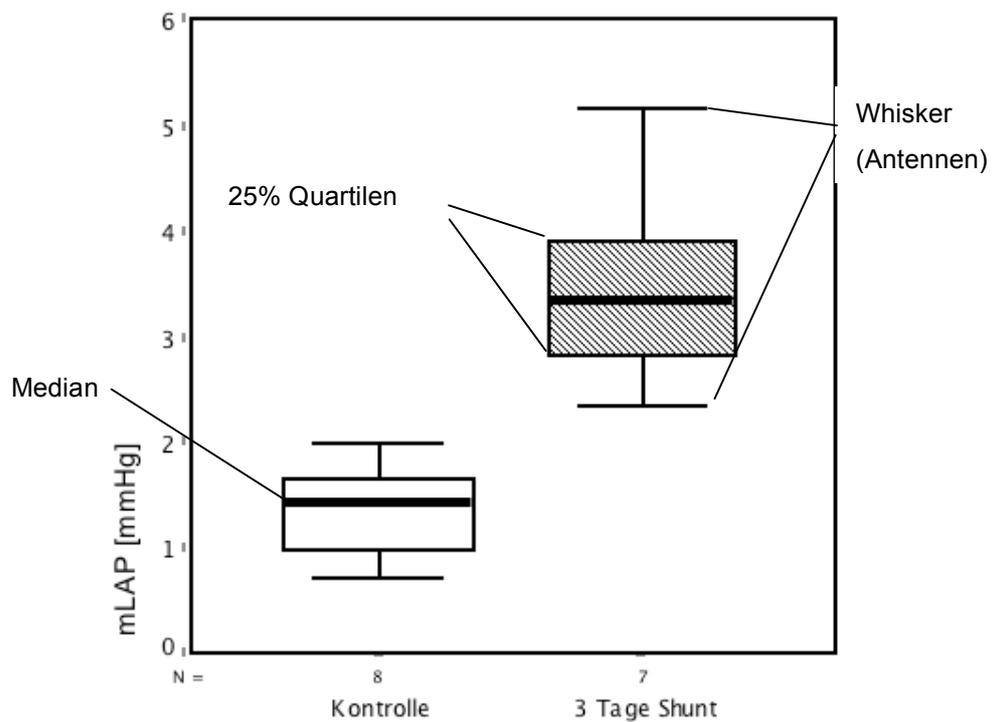


Abbildung 3.7 Beispiel für die grafische Veranschaulichung mit Box Plot-Diagramme.: Innerhalb der Whisker (Antennen) liegen alle Messwerte; der Kasten veranschaulicht die 25% Quartilen (innerhalb dieses Kastens liegen 50% der Messwerte); der dicke Balken entspricht dem Median; Ausreißer und Extremwerte (nicht im Bild) werden durch ° und \* dargestellt.

### 3.5 Ausschlusskriterien

Ausdrückliches Ziel der Studie ist es, Lämmer mit großem angeborenem aortopulmonalen Shunt hämodynamisch zu untersuchen und mit einem gesunden gleichaltrigen Kontrollkollektiv zu vergleichen. Die Größe des Shunts wird einerseits durch das berechnete Verhältnis von  $Q_p/Q_s$  als auch durch anatomische Gegebenheiten definiert. Leider kann die Größe des Shunts nicht vor der hämodynamischen Untersuchung vorausgesagt werden.

Maschinenartiges Geräusch bei der Auskultation, gesteigerte Herzfrequenz und ein großes Herz können lediglich Hinweise sein.

Ob ein Shuntlamm in die endgültige Auswertung aufgenommen werden kann, entscheidet sich nach  $Q_p/Q_s$  -Berechnung sowie Entnahme und Sektion des Herzen. Der Shunt muss vollständig sondierbar sein. Das Verhältnis  $Q_p/Q_s$  muß mindestens 1,5 betragen.

Mögliche Ausschlusskriterien ergeben sich aus chirurgisch experimentellen Fehlern (Shunt zugenäht, Shunt nicht eröffnet, etc.) oder angeborenen strukturellen Anomalien (angeborene Herzfehler, Truncus communis, etc.).

In die Kontrollgruppe sollen nach Möglichkeit nur Tiere aufgenommen werden, an deren Geschwistertier die intrauterine Operation durchgeführt wurde. Damit soll die gleiche Exposition gegenüber mütterlichem Streß und diaplazentar übertragener, medikamentöser Noxen gewährleistet werden.

## 4 Ergebnisse

Im Zeitraum von 18.09.2006 bis 03.04.2008 wurden 13 Lämmer für diese Studie intrauterin operiert. Dabei wurde, wie in 3.2.3 detailliert beschrieben, ein großer aortopulmonaler Shunt angelegt. Neun Tiere gleichen Alters dienten als Kontrollen. Die Lämmer kamen im Mittel 10 d ( $\pm 6$  d SD) nach der Operation zur Welt.

Nur ein operiertes Tier verstarb ohne ersichtlichen Grund im Beobachtungszeitraum.

Elf Tiere der Shuntgruppe sowie neun altersgleiche Kontrolltiere wurden durchschnittlich 3 d ( $\pm 1$  d SD) nach der Geburt hämodynamisch untersucht (3.2.8). Von insgesamt 20 hämodynamisch untersuchten Lämmern wurden 15 in die Auswertung eingeschlossen ( $n=15$ ). Davon sieben in die Shuntgruppe ( $n=7$ ) und acht in die Kontrollgruppe ( $n=8$ ).

Vier Tiere der Shuntgruppe und ein Kontrolllamm wiesen Ausschlusskriterien (vgl. 3.5) auf. Auf Seiten der Shunttiere waren das zugenähte oder, aufgrund anatomischer Verhältnisse abgedrückte Shunts. Es wurde somit keine oder nicht die gewünschte Lungenüberdurchblutung ( $Q_p/Q_s > 1,5$ ) erreicht. Das ausgeschlossene Kontrolltier war an einer ernsten Durchfallerkrankung erkrankt und geschwächt, so dass es schließlich nicht in die Auswertung mit eingeschlossen wurde. Zudem war es eine Spontangeburt ohne vorhergehende Operation an der Mutter.

Tabelle 4.1 verschafft einen Überblick über die untersuchten und in die Studie eingeschlossenen Tiere.

Die Untersuchungsergebnisse aus der Shuntgruppe wurde mit denen der Kontrollgruppe, wie in 3.4 beschrieben, bzgl. ihres Medians verglichen und ausgewertet. Tabelle 4.2 zeigt die Ergebnisse der hämodynamischen Untersuchung. Die signifikanten Ergebnisse ( $p < 0,05$ ) sind gekennzeichnet.

Im Folgenden werden die gemessenen und berechneten Ergebnisse aufgrund der geringen Fallzahl bezüglich der Mediane und der Minimal- und Maximalwerte betrachtet. Mittelwerte und Standardabweichung werden für den Vergleich mit anderen Studien angegeben.

Tabelle 4.1 Übersicht über die in die Studie eingeschlossenen Tiere

	n Shunt	n Kontrolle
Intrauterine Shunt OP	13	0
Spontangeburt ohne Operation an der Mutter	0	2
Zwillingspärchen	1	1
Tod im Beobachtungszeitraum (3d)	1	0
Hämodynamische Untersuchung	11	9
Tod während bzw. vor Beendigung der hämodynamischen Untersuchung	0	0
Ausschluss	4	1
<b>Einschluss</b>	<b>7</b>	<b>8</b>

Tabelle 4.2 Überblick über die Ergebnisse der hämodynamischen Untersuchung (Mittelwert  $\pm$  SD, Median); die signifikanten Ergebnisse ( $p < 0,05$ ) sind mit \* gekennzeichnet

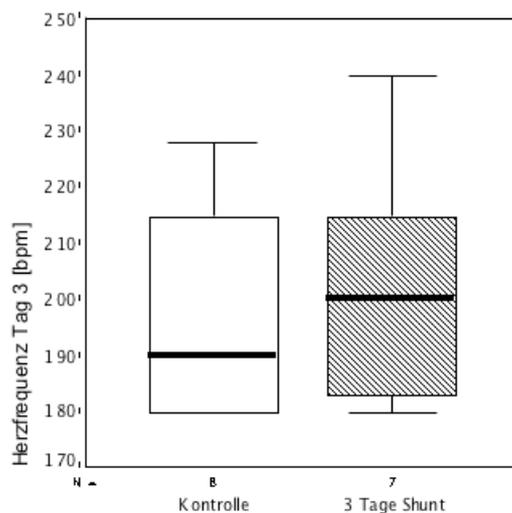
Gemessener Parameter	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert $\pm$ SD	Median	Min/max	Mittelwert $\pm$ SD	Median	min/max
mPAP [mmHg]	19 $\pm$ 4	<b>18</b>	14 - 24	17 $\pm$ 3	<b>17</b>	13 - 21
mLAP [mmHg]*	4 $\pm$ 1	<b>3</b>	2 - 5	1 $\pm$ 0	<b>1</b>	1 - 2
mRAP [mmHg]	1 $\pm$ 1	<b>2</b>	1 - 3	3 $\pm$ 2	<b>2</b>	1 - 6
mSAP [mmHg]	33 $\pm$ 6	<b>34</b>	27 - 43	37 $\pm$ 9	<b>35</b>	28 - 48
sSAP [mmHg]	63 $\pm$ 15	<b>61</b>	46 - 89	64 $\pm$ 18	<b>65</b>	45 - 99
dSAP [mmHg]	18 $\pm$ 6	<b>19</b>	12 - 26	26 $\pm$ 8	<b>24</b>	17 - 36
pulsePressure [mmHg]	44 $\pm$ 17	<b>47</b>	20 - 67	38 $\pm$ 14	<b>36</b>	22 - 67
PAP:SAP	0,6 $\pm$ 0,1	<b>0,5</b>	0,46 - 0,82	0,5 $\pm$ 0,1	<b>0,5</b>	0,31 - 0,59
Pulmonaler Druckgradient [mmHg]	16 $\pm$ 5	<b>16</b>	9 - 21	16 $\pm$ 2	<b>16</b>	13 - 20
Herzfrequenz (HF) [bpm]	147 $\pm$ 9	<b>147</b>	135 - 161	156 $\pm$ 16	<b>153</b>	129 - 181
Blutfluss linke Lunge (Q/kg) [ml/min*kg]*	139 $\pm$ 33	<b>130</b>	102 - 188	64 $\pm$ 23	<b>64</b>	36 - 106
PVR [mmHg/ml*min*kg]*	0,12 $\pm$ 0,05	<b>0,11</b>	0,07 - 0,19	0,27 $\pm$ 0,1	<b>0,24</b>	0,18 - 0,45
SVR [mmHg/ml*min*kg]	0,32 $\pm$ 0,18	<b>0,28</b>	0,15 - 0,66	0,24 $\pm$ 0,1	<b>0,21</b>	0,12 - 0,40
Qp:Qs*	3,2 $\pm$ 1,1	<b>3,0</b>	2,0 - 5,0	1,0 $\pm$ 0,17	<b>1,1</b>	0,76 - 1,26

#### 4.1 Tägliche Untersuchungen

Die Herzfrequenz (HF) sowie die Atemfrequenz (AF) der Tiere zeigten im postnatalen Beobachtungszeitraum von drei Tagen (HF1, HF2, HF3; AF1, AF2, AF3) keinen signifikanten Unterschied zwischen Shunt und Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ). Auch zeigte sich im ersten postnatal ermittelten Körpergewicht (BW1) kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ( $p < 0,05$ ). Tabelle 4.3 gibt eine Übersicht über die erhobenen Daten. Abbildung 4.1 und Abbildung 4.2 veranschaulichen die HF und AF jeweils am 3. Tag postnatal.

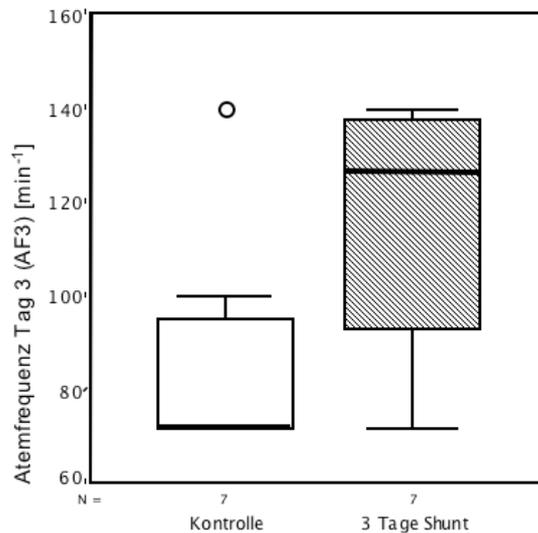
*Tabelle 4.3 Übersicht über die erhobenen Parameter Herzfrequenz (HF) und Atemfrequenz (AF) im Beobachtungszeitraum postnatal (Mittelwert  $\pm$  SD, Median); außerdem mit angegeben: das erste postnatal ermittelte Körpergewicht (BW1); bei keinem Parameter besteht ein signifikanter Unterschied zwischen Shunt- und Kontrollgruppe ( $p$  jeweils  $< 0,05$ )*

Gemessener Parameter	3d Shunt			Kontrolle			p
	Mittelwert $\pm$ SD	<b>Median</b>	min/max	Mittelwert $\pm$ SD	<b>Median</b>	min/max	
HF 1 [bpm]	200 $\pm$ 25	<b>198</b>	160 - 240	175 $\pm$ 21	<b>180</b>	140 - 200	0,079
HF 2 [bpm]	199 $\pm$ 23	<b>192</b>	180 - 240	178 $\pm$ 21	<b>180</b>	150 - 210	0,083
HF 3 [bpm]	202 $\pm$ 23	<b>200</b>	180 - 240	197 $\pm$ 21	<b>190</b>	180 - 228	0,442
AF 1 [ $\text{min}^{-1}$ ]	91 $\pm$ 20	<b>84</b>	60 - 120	95 $\pm$ 22	<b>100</b>	68 - 120	0,796
AF 2 [ $\text{min}^{-1}$ ]	95 $\pm$ 24	<b>100</b>	60 - 120	83 $\pm$ 18	<b>88</b>	54 - 102	0,370
AF 3 [ $\text{min}^{-1}$ ]	114 $\pm$ 28	<b>126</b>	72 - 140	88 $\pm$ 25	<b>126</b>	72 - 140	0,101
BW 1 [kg]	4,1 $\pm$ 0,9	<b>4,1</b>	2,9 - 5,7	3,3 $\pm$ 0,6	<b>3,2</b>	2,7 - 4,3	0,056



	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
HF 3 [bpm]	202 ± 23	<b>200</b>	180 - 240	197 ± 21	<b>190</b>	180 - 228

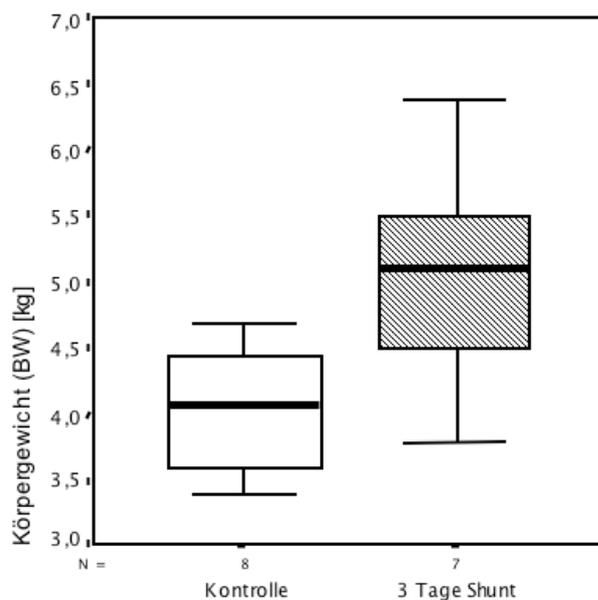
Abbildung 4.1 Herzfrequenz am 3. Lebenstag (HF3) [bpm] Vergleich Kontrolle – Shunt; ( $p=0,442$ )



	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
AF 3 [ $\text{min}^{-1}$ ]	114 ± 28	<b>126</b>	72 - 140	88 ± 25	<b>72</b>	72 - 140

Abbildung 4.2 Atemfrequenz am 3. Lebenstag (AF3) [ $\text{min}^{-1}$ ] Vergleich Kontrolle - Shunt; ( $p=0,101$ )

Zum Zeitpunkt der hämodynamischen Untersuchung zeigt sich jedoch in der Shuntgruppe ein signifikant höheres Körpergewicht (BW) ( $p=0,027$ ) (vgl. Abbildung 4.3). Hierbei muß jedoch berücksichtigt werden, dass die Untersuchung  $3 \pm 1$  d nach der Geburt stattfand und es somit zu statistischen Verschiebungen kommen kann.



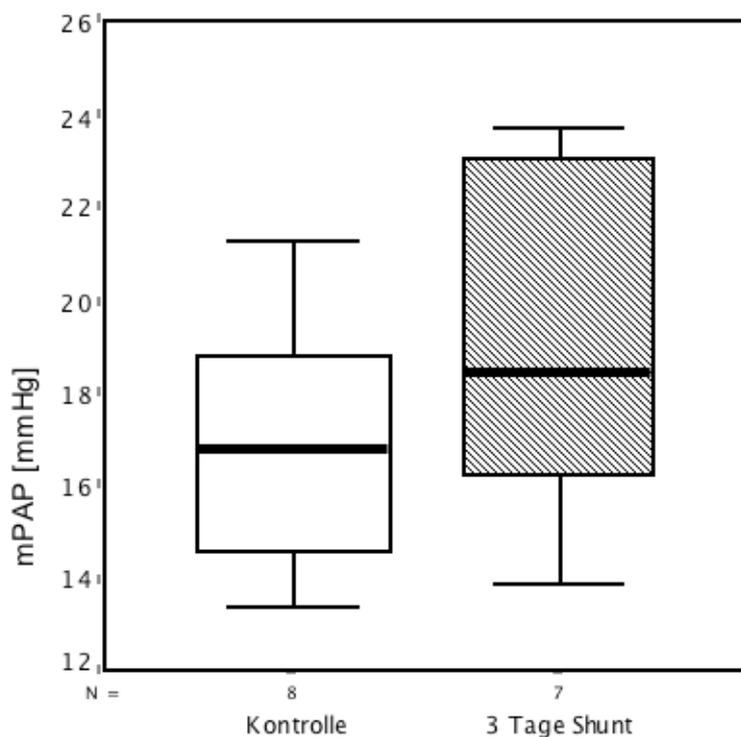
	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert $\pm$ SD	Median	min/max	Mittelwert $\pm$ SD	Median	min/max
BW study [kg]	$5,0 \pm 0,9$	<b>5,1</b>	3,8 - 6,4	$4,0 \pm 0,5$	<b>4,1</b>	3,4 - 4,7

Abbildung 4.3 Körpergewicht der Lämmer am Untersuchungstag (BW study) Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,027$ )

## 4.2 Ergebnisse der hämodynamischen Untersuchung

### 4.2.1 Mittlerer pulmonalerarterieller Druck (mPAP)

Der mPAP ist in der Shuntgruppe gegenüber der Kontrollgruppe nicht signifikant erhöht ( $p=0,274$ )

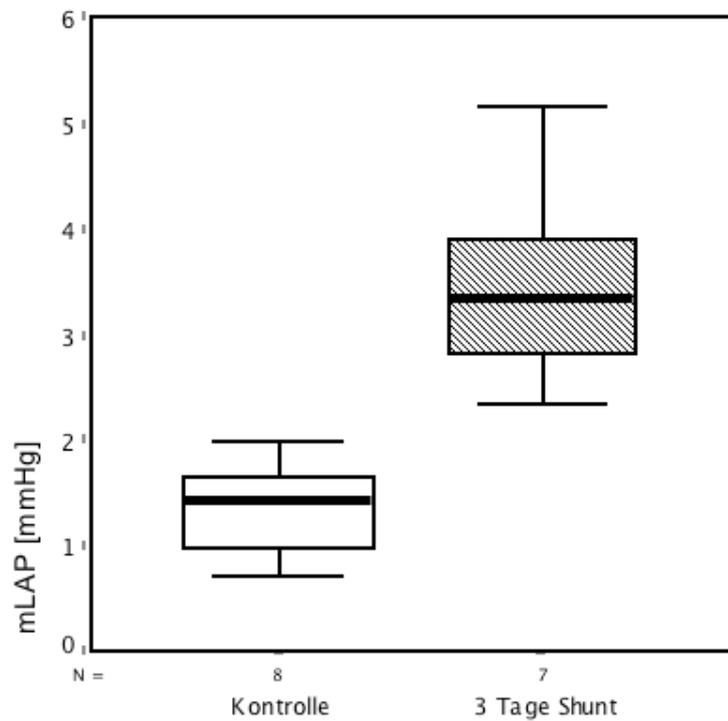


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
mPAP [mmHg]	19 ± 4	<b>18</b>	14 - 24	17 ± 3	<b>17</b>	13 - 21

Abbildung 4.4 mPAP [mmHg] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,247$ )

### 4.2.2 Mittlerer linksatrialer Druck (mLAP)

Der mLAP ist in der Shuntgruppe gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht ( $p=0,001$ ).

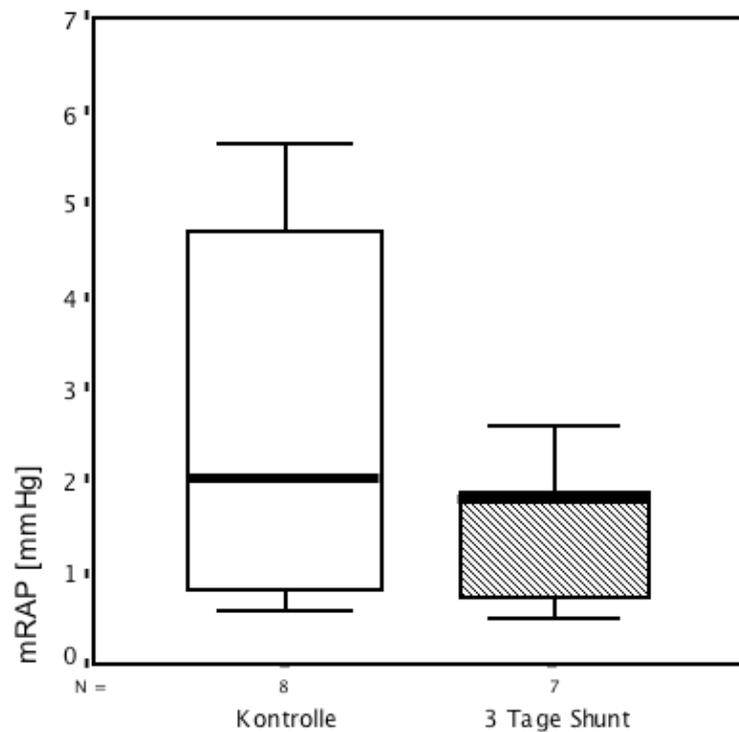


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert $\pm$ SD	Median	min/max	Mittelwert $\pm$ SD	Median	min/max
mLAP [mmHg]	$4 \pm 1$	<b>3</b>	2 - 5	$1 \pm 0$	<b>1</b>	1 - 2

Abbildung 4.5 mLAP [mmHg] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,001$ )

### 4.2.3 Mittlerer rechtsatrialer Druck (mRAP)

Der mRAP ist in der Shuntgruppe gegenüber der Kontrollgruppe nicht signifikant erhöht ( $p=0,335$ ).

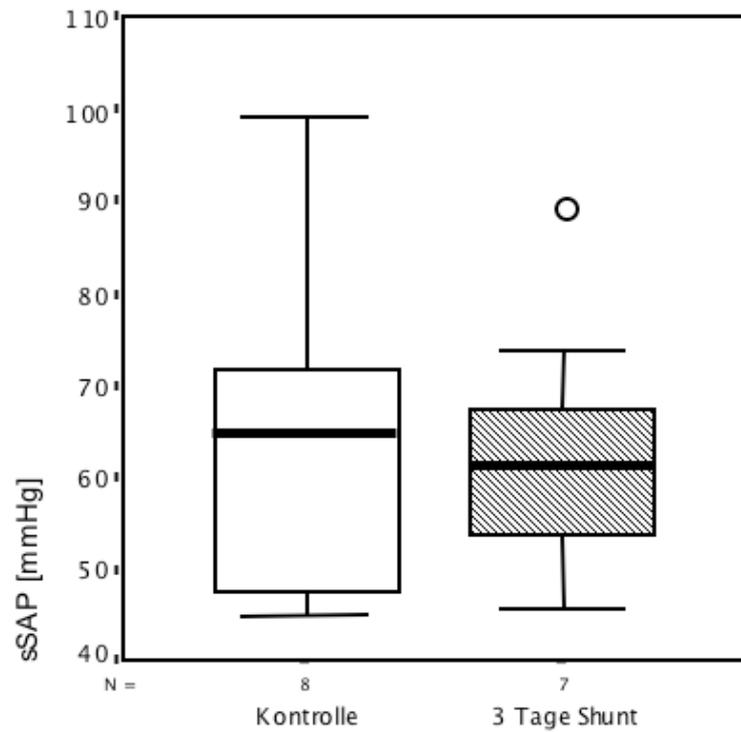


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert $\pm$ SD	Median	min/max	Mittelwert $\pm$ SD	Median	min/max
mRAP [mmHg]	1 $\pm$ 1	2	1 - 3	3 $\pm$ 2	2	1 - 6

Abbildung 4.6 mRAP [mmHg] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,335$ )

#### 4.2.4 Systolischer systemarterieller Druck (sSAP)

Der sSAP unterscheidet sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p=0,817$ ).

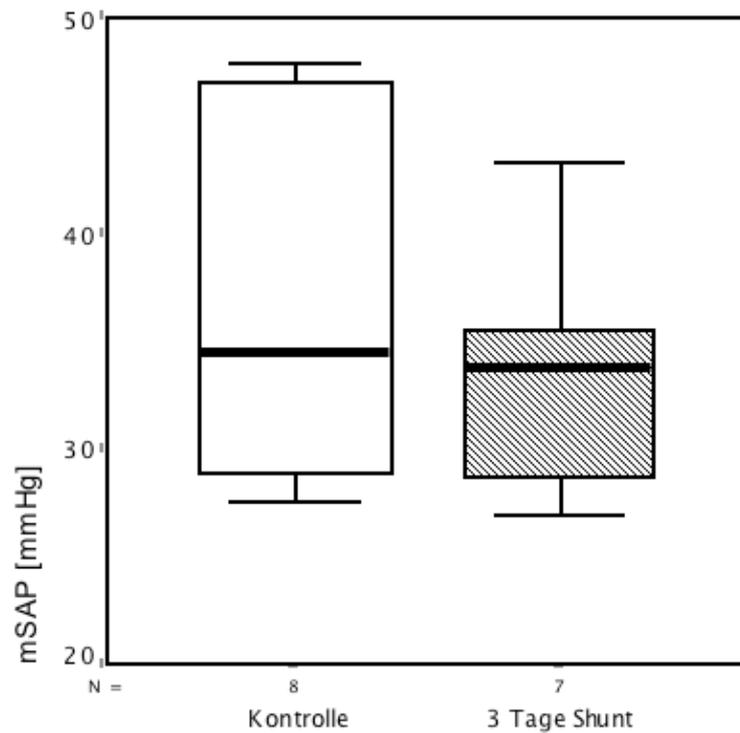


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
sSAP [mmHg]	63 ± 15	<b>61</b>	46 - 89	64 ± 18	<b>65</b>	45 - 99

Abbildung 4.7 sSAP [mmHg] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,817$ )

#### 4.2.5 Mittlerer systemarterieller Druck (mSAP)

Der mSAP unterscheidet sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p=0,355$ ).

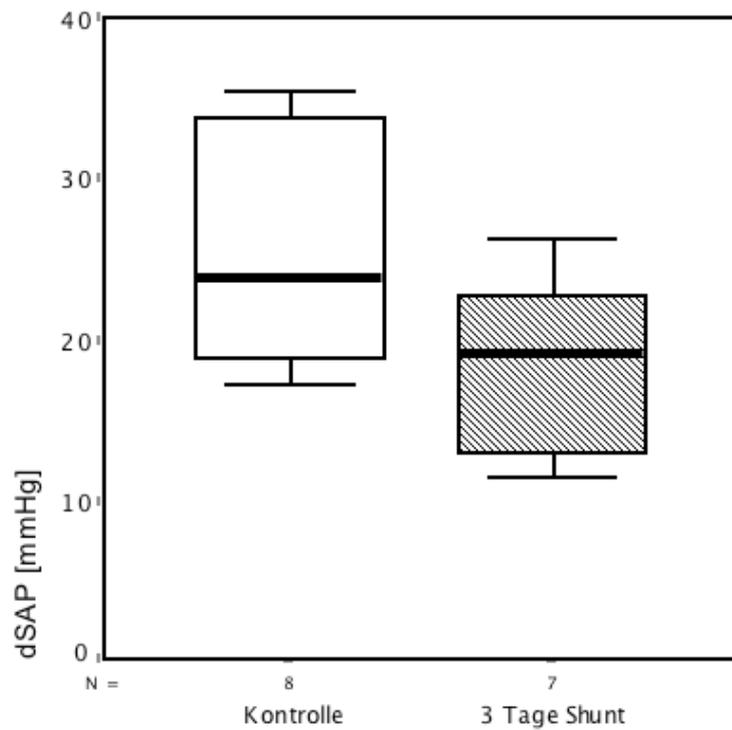


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
mSAP [mmHg]	33 ± 6	<b>34</b>	27 - 43	37 ± 9	<b>35</b>	28 - 48

Abbildung 4.8 mSAP [mmHG] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,355$ )

#### 4.2.6 Diastolischer systemarterieller Druck (dSAP)

Der sSAP unterscheidet sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p=0,083$ ).

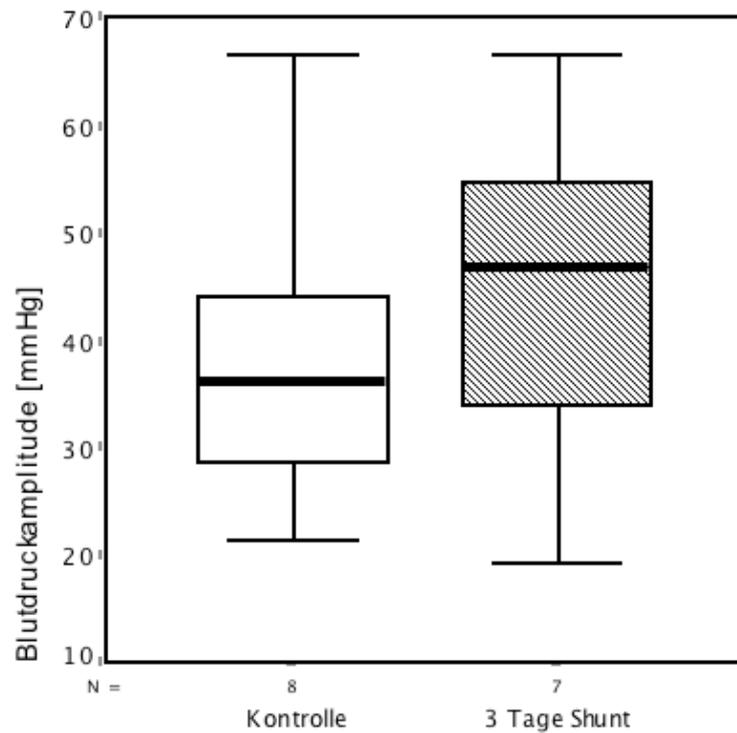


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
dSAP [mmHg]	18 ± 6	<b>19</b>	12 - 26	26 ± 8	<b>24</b>	17 - 36

Abbildung 4.9 dSAP [mmHg] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,083$ )

#### 4.2.7 Blutdruckamplitude (pulse pressure)

Die Blutdruckamplitude unterscheidet sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p=0,487$ ).

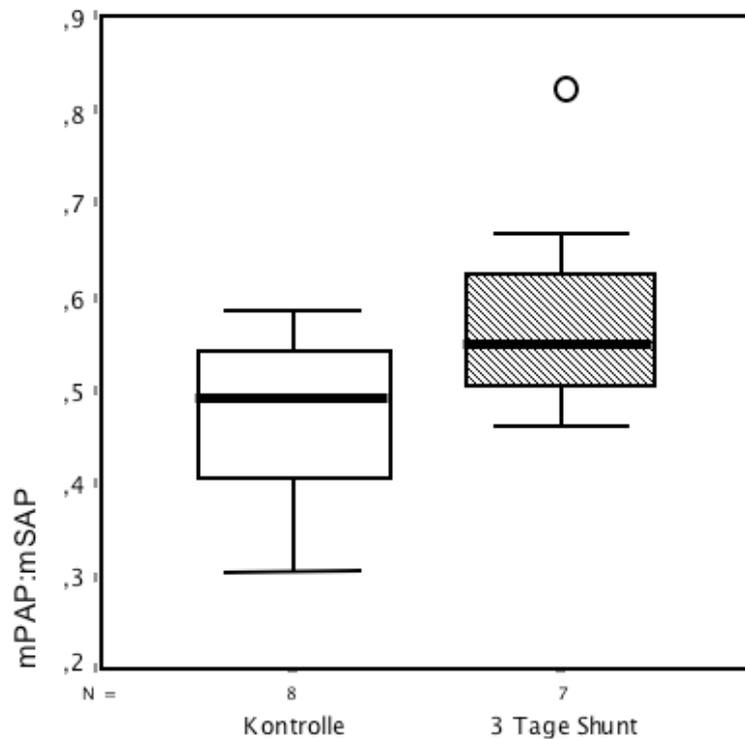


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
pulsePressure [mmHg]	44 ± 17	<b>47</b>	20 - 67	38 ± 14	<b>36</b>	22 - 67

Abbildung 4.10 Blutdruckamplitude [mmHg] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,487$ )

#### 4.2.8 Verhältnis von mittlerem Pulmonalarteriellen Druck zu mittlerem systemisch arteriellem Druck (mPAP:mSAP)

Das Verhältnis mPAP:mSAP unterscheidet sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p=0,083$ ).

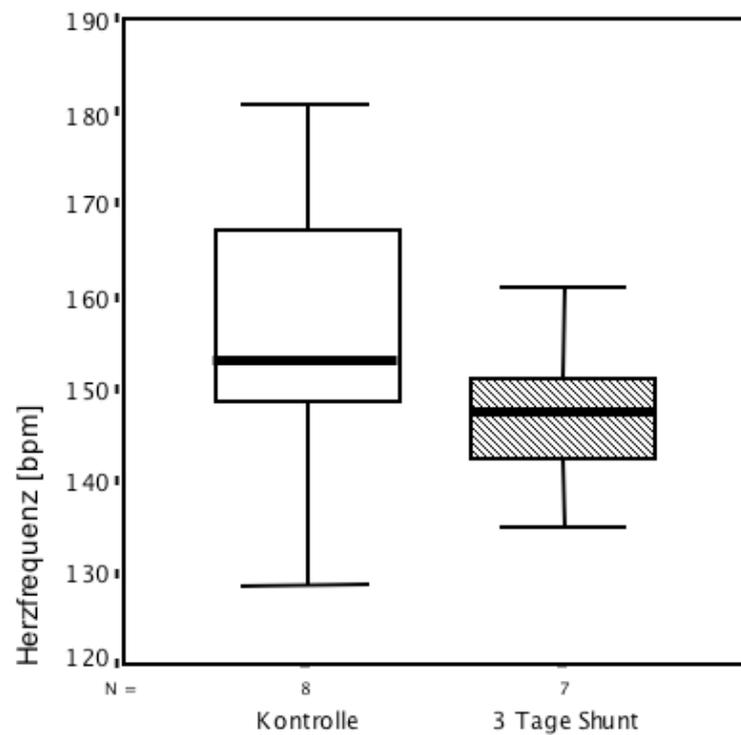


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
PAP:SAP	0,6 ± 0,1	<b>0,5</b>	0,46 - 0,82	0,5 ± 0,1	<b>0,5</b>	0,31 - 0,59

Abbildung 4.11 PAP:SAP Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,083$ )

### 4.2.9 Herzfrequenz (HF)

Die Herzfrequenz unterscheidet sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p=0,165$ )

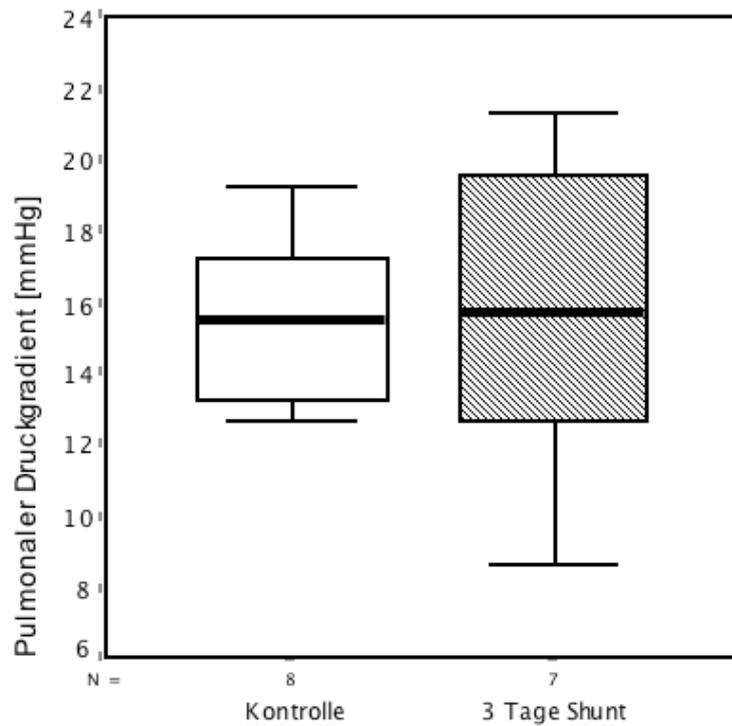


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
HF [bpm]	147 ± 9	<b>147</b>	135 - 161	156 ± 16	<b>153</b>	129 - 181

Abbildung 4.12 Baseline HF [bpm] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,165$ )

#### 4.2.10 Pulmonaler Druckgradient

Der pulmonale Druckgradient unterscheidet sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p=0,817$ ).

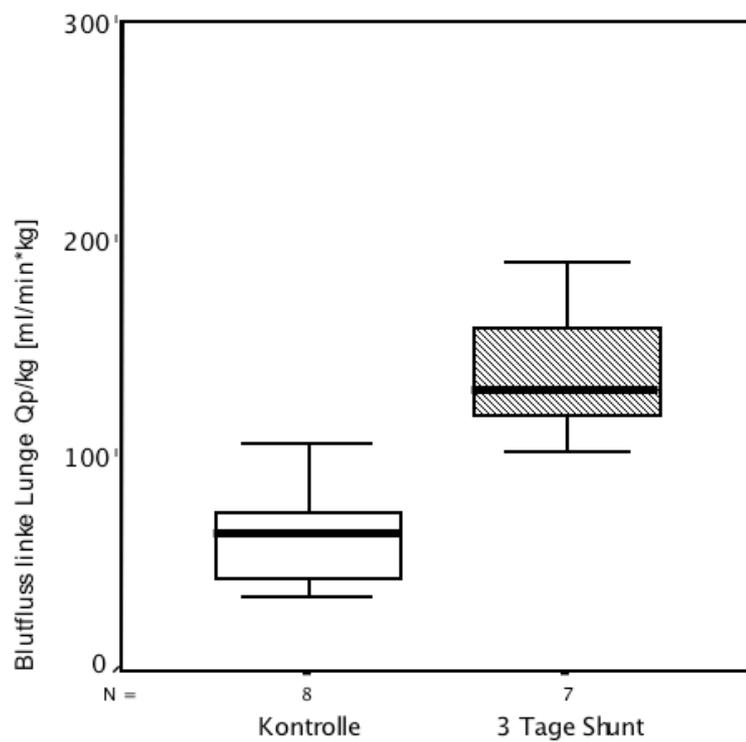


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
Pulmonaler Druckgradient [mmHg]	16 ± 5	<b>16</b>	9 – 21	16 ± 2	<b>16</b>	13 - 20

Abbildung 4.13 pulmonaler Druckgradient [mmHg] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,817$ )

#### 4.2.11 Lungenblutfluß über die linke Lunge (Q<sub>lp</sub>)

Der Lungenblutfluss ist in der Shuntgruppe gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht ( $p=0,001$ ).

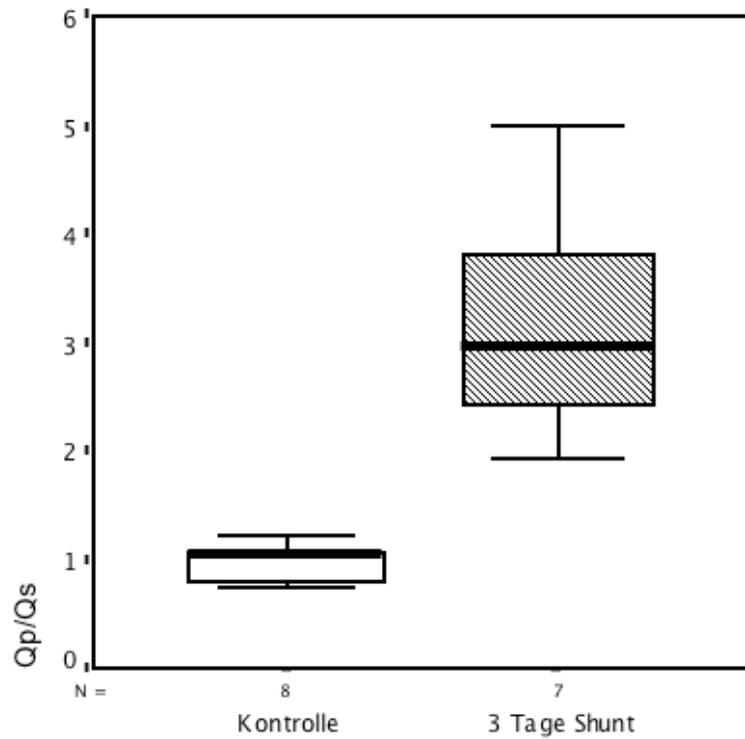


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
Blutfluss linke Lunge (Q/kg) [ml/min*kg]	139 ± 33	<b>130</b>	102 - 188	64 ± 23	<b>64</b>	36 - 106

Abbildung 4.14 A: Q<sub>p</sub> [ml/min\*kg] Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,001$ )

#### 4.2.12 Verhältnis von Lungenblutfluss zu Körperblutfluss (Qp/Qs)

Das Verhältnis Qp/Qs ist in der Shuntgruppe gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht ( $p=0,001$ ).

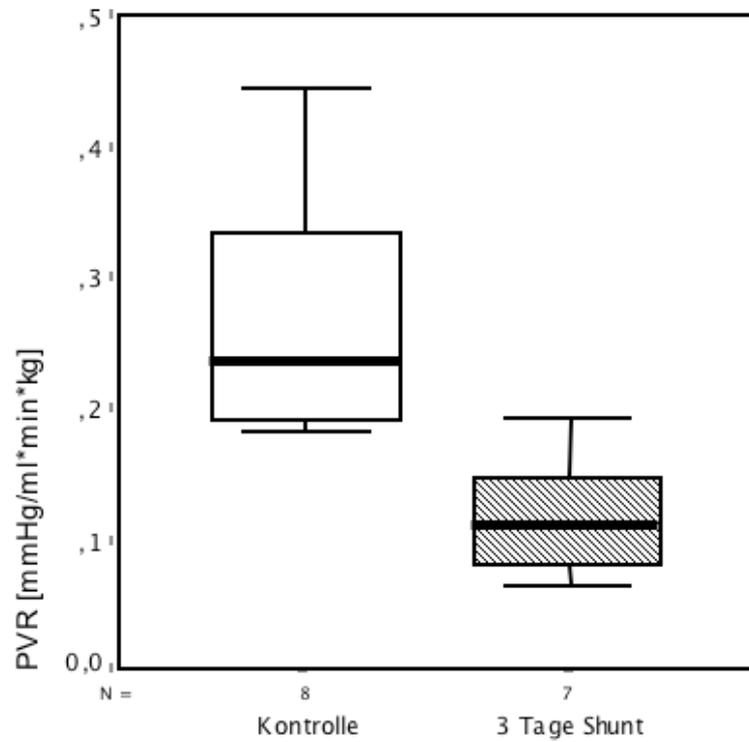


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
Qp:Qs	3,2 ± 1,1	<b>3,0</b>	2,0 - 5,0	1,0 ± 0,17	<b>1,1</b>	0,76 - 1,26

Abbildung 4.15  $Q_{PA}:Q_{SA}$  Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,001$ )

### 4.2.13 Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)

Der PVR ist in der Shuntgruppe gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht ( $p=0,003$ ).

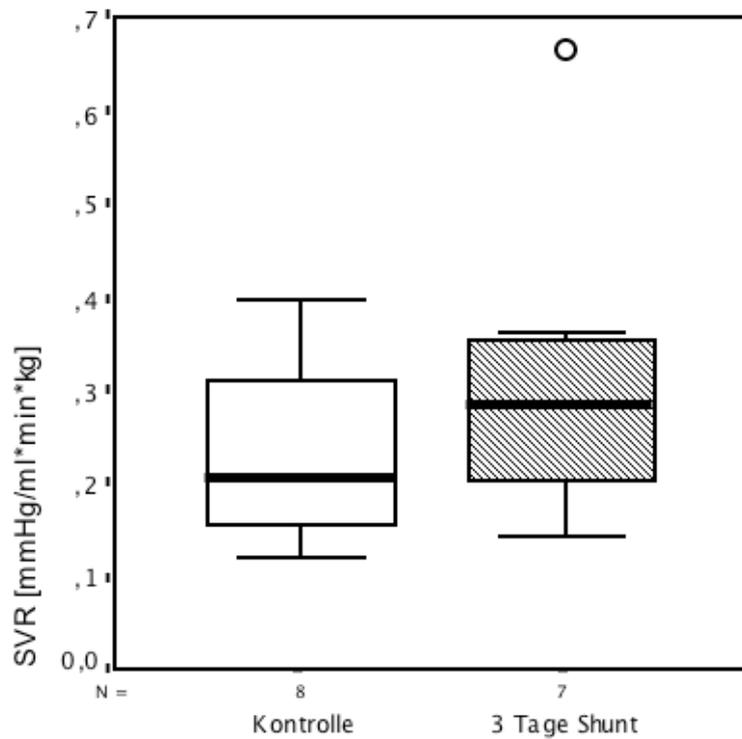


	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
PVR [mmHg/ml*min* kg]	0,12 ± 0,05	<b>0,11</b>	0,07 - 0,19	0,27 ± 0,1	<b>0,24</b>	0,18 - 0,45

Abbildung 4.16 PVR Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,003$ )

#### 4.2.14 Systemvaskulärer Widerstand (SVR)

Der SVR unterscheidet sich zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant ( $p=0,418$ ).



	3d Shunt			3d Kontrolle		
	Mittelwert ± SD	Median	min/max	Mittelwert ± SD	Median	min/max
SVR [mmHg/ml*min* kg]	0,32 ± 0,18	<b>0,28</b>	0,15 - 0,66	0,24 ± 0,1	<b>0,21</b>	0,12 - 0,40

Abbildung 4.17 SVR Vergleich Kontrolle - Shunt ( $p=0,418$ )

## 5 Diskussion

Ziel der Studie ist es, die hämodynamische Situation im drei Tage alten Lamm mit angeborener, großer aortopulmonaler Verbindung zu beschreiben und zu evaluieren. Es liegt nahe die Daten in Zusammenschau mit den Ergebnissen aus bisher durchgeführten Studien zu betrachten.

Bei den Geburtsgewichten der untersuchten Tiere beobachtet man zwischen den beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied ( $p=0,056$ ). Beobachtungen in bisherigen Versuchsreihen der Arbeitsgruppe haben gezeigt, dass das Geburtsgewicht in Abhängigkeit von Einlingsschwangerschaft oder Mehrlingsschwangerschaft schwankt. Einlinge sind bei der Geburt in der Regel schwerer. In dieser Versuchsreihe wurde jedoch lediglich in der Kontrollgruppe ein Einling aufgenommen. Die restlichen Kontrolltiere sind allesamt Zwillingstiere an deren Geschwistertieren dieselbe intrauterine Anlage eines aortopulmonalen Shunts durchgeführt wurde.

Vorausgehende Studien beschrieben Wachstumsstörungen in der Shuntgruppe [45]. Diese scheinen jedoch in den ersten drei Lebenstagen noch keine maßgebliche Rolle zu spielen. Die tägliche Gewichtszunahme der Tiere ist ähnlich. Das täglich gemessene Gewicht ist nicht signifikant unterschiedlich ( $p>0,05$ ). Zum Zeitpunkt der Untersuchung sind die Shunttiere signifikant ( $p=0,027$ ) schwerer als die Kontrolltiere. Das signifikant höhere Gewicht zum Untersuchungszeitpunkt im Vergleich zu den täglich ermittelten Gewichten ist ein statistisches Phänomen, da die Tiere im Alter von  $3 (\pm 1 \text{ SD})$  Tagen untersucht wurden und somit etwas jüngere und etwas ältere Tiere zu diesem Median und Mittelwert beitragen.

Eine tatsächliche Tendenz zu schwereren Shunttieren könnte jedoch auf die intraabdominelle Lage des operierten Tieres zurückzuführen sein. Der leichter für die Operation zugängliche Fötus könnte in seiner Entwicklung von der freieren Lage im Abdomen der Mutter vor der Geburt profitiert haben.

Subjektiv scheinen die Shuntlämmer nicht in ihrer Leistungsfähigkeit beeinträchtigt.

Versucht man die Leistungsfähigkeit der Lämmer zu quantifizieren und betrachtet man die Herzfrequenz und Atemfrequenz, so sieht man auch hier in den ersten drei Lebenstagen keinen signifikanten Unterschied zwischen Shunt- und Kontrollgruppe ( $p > 0,05$ ).

Letztendlich bleibt unklar, ob die Zeitspanne von chirurgischer Intervention bis zur Geburt der Lämmer eine entscheidende Rolle für deren Geburtsgewicht spielt. In der Operation könnte ein Grund für eine intrauterine Wachstumsverzögerung vermutet werden. Vorzeitige Geburten aufgrund der intrauterinen Manipulation werden bei Schafen selten beobachtet [31]. Insgesamt wurden mittlerweile diverse Studien mit intrauterinen Anlage eines Shunts nach der von REDDY et al. etablierten Methode durchgeführt [3, 4, 20, 41, 43, 45, 46].

Die ähnlichen Geburtsgewichte in der vorliegenden Untersuchung sprechen gegen eine Beeinträchtigung der intrauterinen Entwicklung der Shuntlämmer durch die Intervention.

Im Rahmen des Studienaufbaus wurde diskutiert, das Körpergewicht zum Zeitpunkt der Untersuchung als Einschlusskriterium zu definieren, um ein möglichst vergleichbares standartisiertes Kollektiv zu schaffen. Darauf wurde verzichtet. Dafür wurde der gemessene Lungenblutfluss auf das jeweilige Körpergewicht bezogen.

In Abbildung 5.1 werden die Gewichte zum Untersuchungszeitpunkt von Kontroll- und Shunttieren mit unterschiedlichem Alter verglichen. Es wird indirekt ein Verlauf der Gewichtsentwicklung bei Kontroll- und bei Shunttieren angedeutet. Dazu wurden Daten im Alter von 3, 7 [43], 21 (unveröffentlichte Daten der eigenen Arbeitsgruppe), 28 [41] und 56 [4] Tagen herangezogen.

Hierbei ist zu beachten, dass die Untersuchungen im Alter von 7, 28 und 56 Tagen an Schafen der amerikanischen Rasse Mixed Breed Western vorgenommen wurden. Damit können rassenspezifische Unterschiede als Störfaktoren im Vergleich zu den Bayerischen Bergschafen, die im

vorliegenden Experiment verwendet wurden, nicht endgültig ausgeschlossen werden.

Die Daten der 21 Tage alten Tiere stammen aus eigenen bisher unveröffentlichten Daten der Arbeitsgruppe und wurden ebenfalls an Bayerischen Bergschafen aus demselben Zuchtbetrieb erhoben.

Weiter ist zu beachten, dass es sich nicht um eine Verlaufskontrolle im Sinne einer Fall-Kontroll-Studie handelt, sondern Endpunktmessungen der einzelnen Kontroll- sowie Shuntgruppen.

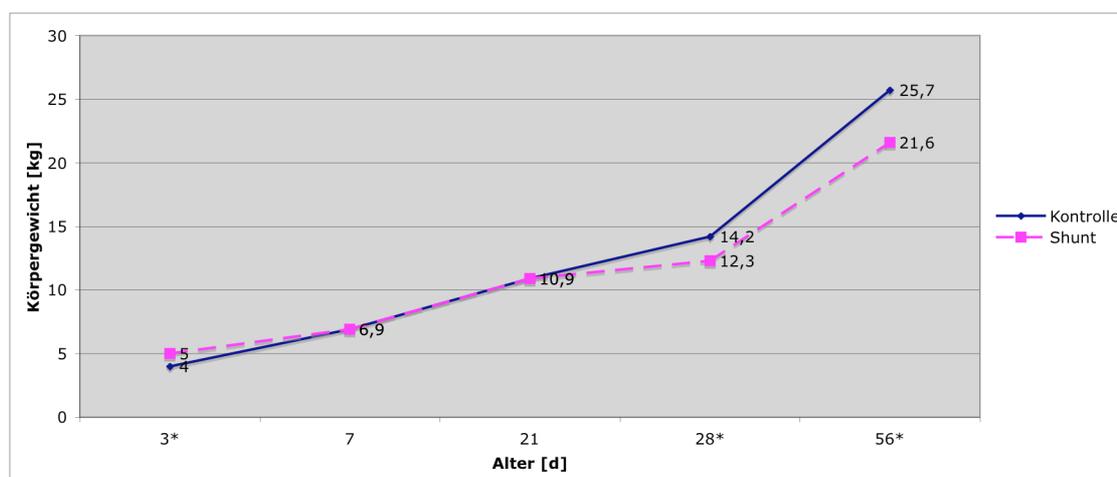


Abbildung 5.1 Gewichte der Tiere zum Zeitpunkt der hämodynamischen Untersuchung bei Untersuchungen im Alter von 3,7 [43], 21 (bisher unveröffentlichte Daten der Arbeitsgruppe), 28 [41] und 56 [4] Tagen; die Untersuchungszeitpunkte zu denen ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen Shunt- und Kontrollgruppe besteht, sind mit \* gekennzeichnet

Bei der Interpretation der Ergebnisse aus der hämodynamischen Untersuchung muss zwischen tatsächlich gemessenen Werten und, aus diesen Messwerten errechneten Ergebnissen unterschieden werden.

Den berechneten Werten liegen oft physikalische Gesetze zu Grunde, die nur eingeschränkt direkt einen lebenden Organismus übertragen werden können. Die genauesten Werte der hämodynamischen Untersuchung sind damit der, mittels Flusssonde gemessene  $Q_{lp}$  sowie die invasiv, mittels Druckwandler gemessenen Drücke.

Der Lungenblutfluss  $Q_{lp}$  ist der tatsächliche, mit einer Ultraschallflusssonde gemessene Blutfluss durch die linke Lungenarterie. Der signifikant erhöhte

$Q_p/kg$  ( $p=0,002$ ) in den Shunttieren basiert auf der künstlichen Gefäßanastomose zwischen AO und PA und dem daraus resultierenden Links-Rechts-Shunt nach der Geburt.

Er übersteigt den systemarteriellen Blutfluss  $Q_s$  im Shunttier um ein Vielfaches. Der Quotient  $Q_p/Q_s$  ist daher im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht (Median: 3,0 Mittelwert:  $3,2 \pm 1,1$  SD;  $p=0,001$ ). Dieser Quotient ist ein wichtiger Indikator für den Erfolg der intrauterin platzierten Gefäßanastomose. Er ist in der Shuntgruppe als Einschlusskriterium (siehe 3.5) definiert. Die Streuung im Bereich der absoluten Werte für den  $Q_p/kg$  und damit auch  $Q_p/Q_s$  ist sehr breit. ( $Q_p/Q_s$  Shuntgruppe: 2,0 - 5,1). Hier spielt vor allem das chirurgische Vorgehen bei der intrauterinen Operation eine entscheidende Rolle.

Trotz standardisierter und etablierter Operationstechnik und selbem Chirurgen während der Versuchsreihe, ergeben sich interindividuell abweichende anatomische Positionen der Gefäßanastomose. Diese Unterschiede führen zu Unterschieden in der jeweilig exakten hämodynamischen Situation. Vor allem Abweichungen in der intrauterinen Lage, Zugänglichkeit des Fötus und dessen Größe zum Zeitpunkt der Operation sind entscheidend für ein optimales chirurgisches Ergebnis. Der Beitrag solcher Komplikationen zur breiten Streuung der Ergebnisse ist allerdings bei kleinen Fallzahlen schwer quantifizierbar.

Ein weiterer Faktor für eine breite Streuung des Quotienten  $Q_p/Q_s$  ist der Untersuchungszeitpunkt. Zwei bis drei Tage nach der Geburt kann sich der Ductus arteriosus noch wiedereröffnen. Bis zu diesem Zeitpunkt ist es eine muskuläre Kontraktion die den DA funktionell verschließt [52]. Bei niedrigen  $O_2$ -Sättigungen wie sie im Rahmen einer Minderventilation vorkommen, kann sich der DA wiedereröffnen [55]. Das könnte auch der Grund für kleine Links-Rechts-Shunts in der Kontrollgruppe sein, wobei eine Minderventilation unter den kontrollierten Bedingungen ausgeschlossen sein sollte. Auf der anderen Seite wurde in der Kontrollgruppe auch ein Tier mit kleinem Rechts-Links-Shunt (0,76) bei vergleichsweise hohem PVR und erniedrigtem  $Q_p$

beobachtet. Diese Beobachtung könnte durch einen verzögerten Abfall des PVR in diesem vier Tage alten Lamm erklärt werden.

Weitere Ungenauigkeiten können in der Berechnung des  $Q_p/Q_s$  aus den Sauerstoffsättigungen der entnommenen Blutproben liegen. Die Berechnung ist jedoch bei Ventilation mit Raumluft und exakt gleichzeitiger Probenentnahme, sowie unmittelbarer Aufarbeitung der Proben sehr genau [54].

Weitere gemessene Parameter sind die, mittels Druckwandler gemessenen, Blutdruckwerte. Abbildung 5.2 veranschaulicht die Verhältnisse im drei Tage alten Shunt-Lamm.

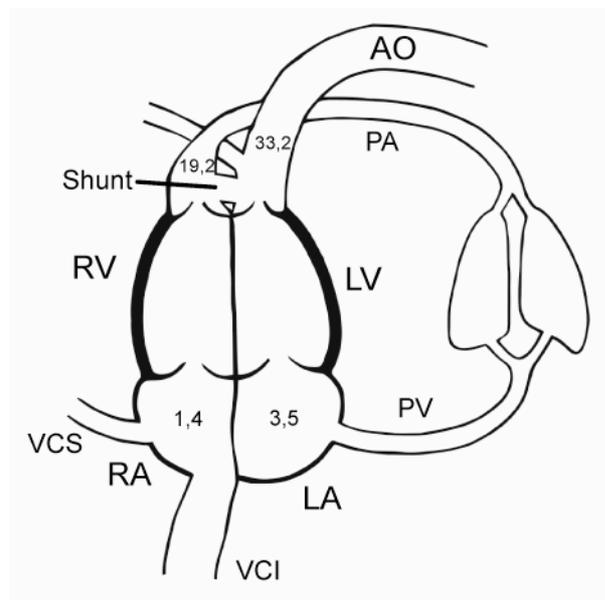


Abbildung 5.2 Schematische Darstellung des Kreislaufs im Shunt-Lamm (vgl. Abbildung 2.3) mit den Ergebnissen der hämodynamischen Untersuchung (vgl. 4.2) (modifiziert nach RUDOLPH [52]) Der DA und das FO sind (funktionell) verschlossen; es besteht eine große Verbindung zwischen AO und PA proximal des Abgangs der brachiocephalen Gefäße (Shunt); Drücke in [mmHg]

Der mLAP ist dabei gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Diese Beobachtung wurde in weiteren Versuchsreihen an 1 [43], 3 (eigene Daten), 4 [7, 45] und 8 [4] Wochen alten Lämmern ebenfalls gemacht. Dieser erhöhte Druck kann durch den erhöhten Rückfluss aufgrund der Lungenüberdurchblutung erklärt werden. Denkbar wäre auch eine Drucksteigerung als Folge eines linksventrikulären Vorwärtsversagens, da die Auswurfleistung aufgrund der Lungenüberdurchblutung erhöht werden

muss, um eine adäquate systemische Zirkulation aufrechtzuerhalten. Es zeigt sich bei den Shunttieren jedoch kein Lungenödem oder weitere Hinweise auf ein solches Linksherzversagen.

Der mSAP hingegen zeigt zwischen Shunt- und Kontrollgruppe keinen signifikanten Unterschied ( $p=0,335$ ), obwohl man durch den steigenden  $Q_p$  einen abnehmenden  $Q_s$  erwartet. Diesen Verlust an systemischem Blutfluss könnte das Herz durch eine Ausschöpfung des Frank-Starling-Mechanismus kompensieren.

Die Herzfrequenz zum Zeitpunkt der Untersuchung kann dazu nicht herangezogen werden, da diese durch die Narkotika stark beeinflusst wird. Sie ist während der hämodynamischen Untersuchung zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich ( $p=0,165$ ). Entscheidend ist hier das Ergebnis der Herzfrequenzmessung im Beobachtungszeitraum. Jedoch werden auch in diesem Zeitraum keine signifikant unterschiedlichen Herzfrequenzen (HR1, HR2, HR3) zwischen den Gruppen beobachtet ( $p$  jeweils  $>0,05$ ).

Die bei der hämodynamischen Untersuchung imponierenden großen linken Ventrikel lassen eine Kompensation über zunehmende Wandspannung und muskuläre Hypertrophie vermuten.

Im Vergleich zu vorausgehenden Studien sind der dSAP ( $p=0,083$ ) sowie der mSAP ( $p=0,355$ ) zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich [46]. Normalerweise würde man einen niedrigeren mdSAP in der Shuntgruppe erwarten, da in der Diastole Blut über die künstliche Gefäßanastomose abfließt. Die physiologische Windkesselfunktion der Aorta ist gestört. So wurde bei 3 Wochen alten Tieren eine hohe Blutdruckamplitude beobachtet (unveröffentlichte Daten der eigenen Gruppe).

Auch wenn man mPAP und mSAP im Verhältnis zueinander unter den beiden Gruppen betrachtet, beobachtet man keinen signifikanten Unterschied zwischen Shunt- und Kontrollgruppe ( $p=0,083$ ).

Betrachtet man den mPAP, fällt auf, dass sich die Werte der Shuntgruppe nicht signifikant von denen der Kontrollgruppe unterscheiden ( $p=0,247$ ). Das bedeutet dass der Shunt trotz des erhöhten Blutflusses drucktrennend (restriktiv) ist.

Eine Zunahme im mPAP wird erst bei älteren Shunttieren beobachtet. Dies wird in Tabelle 5. veranschaulicht.

*Tabelle 5. mPAP bei der hämodynamischen Untersuchung im Alter von 3, 7[43], 21 (bisher unveröffentlichte Daten der Arbeitsgruppe), 28 [20] und 56 [4] Tagen; in den mit \*markierten Gruppen ist der mPAP der Shuntgruppe jeweils signifikant ( $p<0,05$ ) höher als der mPAP der Kontrollgruppe*

	3 Tage	7 Tage*	21 Tage *	28 Tage*	56 Tage*
mPAP Shunt [mmHg]	19	23	21	25	28
mPAP Kontrolle [mmHg]	17	18	18	18	18

Abbildung 5.3 zeigt den Anstieg des mPAP im Vergleich der Studien. Für die Interpretation gelten die bereits erwähnten möglichen Einschränkungen bzgl. der Rasse.

Damit entspricht der intrauterin platzierte aortopumonale Shunt im drei Tage alten Tier nicht ganz dem ursprünglich etablierten Modell mit erhöhtem  $Q_p$  und erhöhtem mPAP sondern einem Versuchsaufbau mit isoliert erhöhtem  $Q_p$  bei niedrigerem PVR.

Diese Beobachtung lässt vermuten, dass strukturelle Umbauvorgänge zu diesem Zeitpunkt vor allem auf einen erhöhten Blutfluss zurückzuführen sind und ihrerseits sekundär zu einem erhöhten Blutdruck im Lungenkreislauf führen.

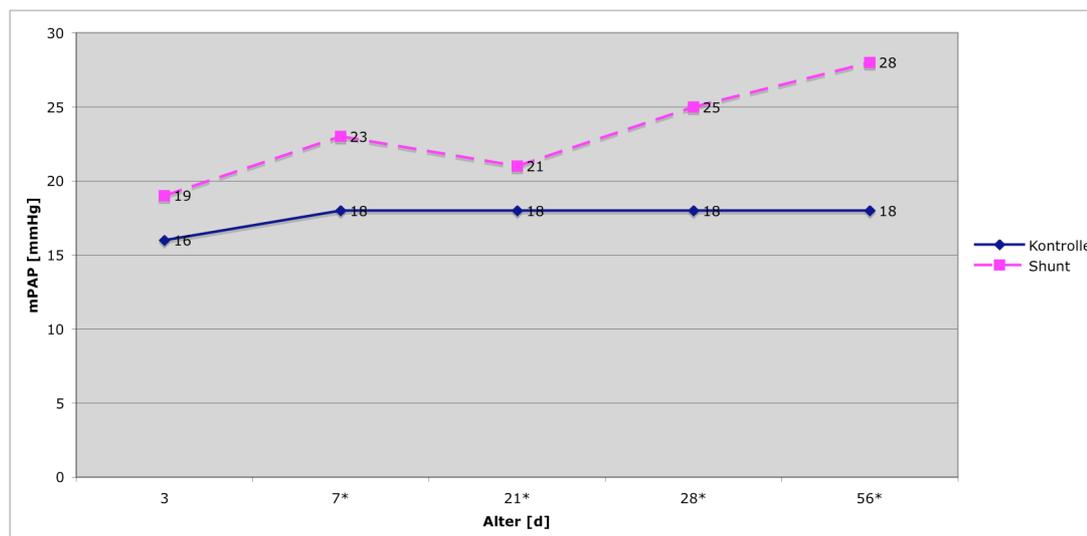


Abbildung 5.3 Mittlerer Pulmonalarterieller Druck bei hämodynamischen Untersuchungen im Alter von 3,7 [43],21 (bisher unveröffentlichte Daten der eigenen Arbeitsgruppe),28 [20] und 56 [4] Tagen; die Untersuchungszeitpunkte zu denen ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen Shunt- und Kontrollgruppe besteht, sind mit \* gekennzeichnet

Wie auch in vorhergehenden Studien imponiert der signifikante Unterschied im PVR zwischen Kontroll- und Shuntgruppe. Tabelle 5.1 zeigt die errechneten Werte für den PVR im Alter von 3, 7 [43], 21 (unveröffentlichte Daten der eigenen Gruppe), 28 [41], 56 [4] Tagen. Im Vergleich zur jeweiligen Kontrollgruppe ist der PVR in der Shuntgruppe niedriger.

Tabelle 5.1 Pulmonalvaskulärer Widerstand bei hämodynamischen Untersuchungen im Alter von 3,7 [43],21 (bisher unveröffentlichte Daten der eigenen Arbeitsgruppe),28 [7] und 56 Tagen [4]; in den mit \*markierten Gruppen ist der PVR der Shuntgruppe jeweils signifikant ( $p < 0,05$ ) niedriger als der PVR der Kontrollgruppe

	3 Tage*	7 Tage*	21 Tage	28 Tage	56 Tage*
PVR Shunt [mmHg/ml/min*kg]	0,12	0,12	0,10	0,14	0,16
PVR Kontrolle [mmHg/ml/min*kg]	0,27	0,25	0,20	0,28	0,34

Der PVR ist dabei eine Größe, die sich durch äußere Einflüsse perinatal stark verändert und damit von großem Interesse ist. Der PVR zieht Änderungen in mPAP und Qp nach sich. Diese beeinflussen wiederum der PVR. Dabei wird der PVR genau aus diesen Werten rechnerisch bestimmt. In der vorliegenden Studie wird sowohl in der Shuntgruppe als auch in der Kontrollgruppe der PVR der linken Lunge errechnet, da nur der Qp über die

linke Lungenarterie exakt ermittelt wird. Der Gesamtwiderstand der Lunge müsste mit dem angenommenen Wert einer Durchblutungsverteilung von 40% auf den linken Lungenflügel korrigiert werden. Um den Vergleich mit vorausgehenden Studien zu erleichtern wurde darauf verzichtet.

Gleichung 5.1

$$PVR = \frac{mPAP - mLAP}{Q_p}$$

Rein algebraisch lässt sich der niedrige PVR leicht erklären. Die ermittelten Ergebnisse zeigen einen signifikanten Anstieg in mLAP und  $Q_p$  so dass bei gleich bleibendem mPAP der Quotient in Gleichung 5.1 kleiner wird als unter physiologischen Umständen.

Der von uns bestimmte PVR setzt sich aus dem Widerstand der Arterien ( $PVR_{art}$ ), Kapillaren ( $PVR_{kap}$ ) und Venen ( $PVR_{ven}$ ) zusammen (Gleichung 5.2). Ein jeder dieser Faktoren trägt dabei etwa zu gleichen Teilen zum Gesamt-PVR bei [39].

Gleichung 5.2

$$PVR = PVR_{art} + PVR_{kap} + PVR_{ven}$$

Wichtig ist im Rahmen dieser mathematisch, physikalischen Herangehensweise, Grenzen in der Übertragbarkeit auf einen lebenden Organismus zu erwähnen. Die genannten Grenzen der Anwendbarkeit der physikalischen Gesetze gelten dabei für die Kontrollgruppe ebenso wie für die Shuntgruppe was einen Vergleich der Werte untereinander erlaubt.

Sämtlichen Berechnungen der vaskulären Widerstände liegt dabei das Hagen-Poiseuille'sche Gesetz (Gleichung 5.3) bzw. die hydraulische Abwandlung des Ohm'schen Gesetzes (Gleichung 5.4) zugrunde.

Gleichung 5.3

$$Q = \frac{\Delta P \pi r^4}{8 \eta l}$$

Nach Poiseuille sind in dieser Gleichung die Viskosität  $\eta$  und  $\pi$  konstant. Damit ist nach Umformung Quotient aus Druckdifferenz und Blutfluss

umgekehrt proportional zur vierten Potenz des Gefäßradius. Bei einem definierten Druck bedeutet das, dass der Blutfluss umso kleiner ist, je kleiner der Gefäßradius ist. Oder, dass bei großem Gesamtgefäßdurchmesser auch bei niedrigen Drücken hohe Flusswerte erreicht werden können. Dieses Verhältnis definiert den Gefäßwiderstand. Schon geringe Änderungen des Gefäßdurchmessers haben somit eine große Auswirkung auf den Widerstand.

*Gleichung 5.4*

$$\frac{\Delta P}{Q} \propto \frac{1}{r^4} = PVR$$

Neben der Konstante  $\eta$  für Viskosität ist nach Poiseuille der Fluss laminar und kontinuierlich. Im lebenden Organismus jedoch ist der Blutfluss pulsatil und nicht laminar.

Darüber hinaus gilt das Gesetz nur für Newtonsche Flüssigkeiten. Blut ist jedoch eine Suspension korpuskulärer und flüssiger Bestandteile. Die Scherspannung von Blut verhält sich nicht proportional zu seiner Schergeschwindigkeit [48].

Blut kann in seiner Viskosität stark variieren während die Viskosität einer Newtonschen Flüssigkeit nur von deren Temperatur abhängig ist. Im Blut wird sie maßgeblich durch den Hämatokrit bestimmt. Dieser wiederum unterliegt eine Vielzahl physiologischer Faktoren. So ist er beispielsweise beim Säugling oder Dehydratation höher.

Außerdem geht die Entwicklung des Gesetzes auf Experimente an starren Glasrohren zurück [48]. Das Gefäßssystem hingegen ist nicht starr und unterliegt zudem starken bereits genannten pulsatilen Einflüssen. Der Gefäßdurchmesser ändert sich mit der Pulsation. Das Ausmaß dieser Veränderung im Durchmesser wiederum wird durch die Compliance der Gefäßwand bestimmt, die ihrerseits zwischen Venen und Arterien und in Abhängigkeit von deren Größe stark variiert [39]. Hinzu kommt, dass der Gesamtdurchmesser der Lungengefäße in den verschiedenen Generation

von Gefäßen sehr unterschiedlich ist. So ist er zentral bei 2 Lungenarterien noch relativ gering und steigt auf ein Höchstmaß auf Kapillarebene [39].

Die Gefäßwände sind unterschiedlich stark muskularisiert und innerviert und können damit über eine aktive Änderung des Tonus den Gefäßdurchmesser stark beeinflussen. Auch hier herrschen unmittelbar nach der Geburt noch besondere Umstände. Gefäße von unmittelbar postnatal gewonnenem Lungengewebe weisen generell einen stärkeren Muskularisierungsgrad auf.

Nach der Geburt kommt es durch mechanische Expansion der Lunge und Füllung der Alveolen mit Sauerstoff zum Abfall des PVR. [52] Erhöhte Sauerstoffspannung lässt schon intrauterin den PVR gegen Ende der Schwangerschaft sinken [60] und leistet den entscheidenden Beitrag zum Abfall des PVR perinatal [6] wenngleich mechanische Expansion ohne Änderung der Sauerstoffspannung auch schon zu einem leichten Absinken des PVR führen [14]. Reduziert man im neugeborenen Lamm den  $PO_2$  beobachtet man wieder einen Anstieg des PVR [53].

Die Flüssigkeit, die den fetalen Alveolarraum füllt, wird bei der Geburt teils mechanisch aus den Lungen gepresst. Reste werden resorbiert. Arterien die durch die Flüssigkeit komprimiert waren, können sich ausdehnen. Dazu kommt es durch die Entfaltung der Lunge zum Aufspannen zuvor geknickter Lungenarterien und zur Änderung der alveolären Oberflächenspannung mit daraus resultierendem negativen Druckverhältnissen die dilatierend auf die kleinen Gefäße wirken [16]. Die physikalische Expansion der Lunge führt darüber hinaus zur Freisetzung vasodilatativer Substanzen [37]. Zahlreiche Aspekte des Abfalls des PVR nach der Geburt sind trotzdem bislang unvollständig verstanden [31].

Man beobachtete zudem an 4 Wochen alten Shuntlämmern (ebenfalls nach intrauteriner Shuntanlage) eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höhere Anzahl an intraazinären Arterien, die eine Erklärung für den niedrigeren PVR im diesem Untersuchungsalter bieten [45]. Es wurde ein verzögerter Abfall des PVR in den Shuntlämmern postuliert, der für die niedrige Morbidität und Mortalität in der Versuchserie verantwortlich gemacht wurde [45]. Die vorliegende Studie sowie eine Untersuchung an sieben Tage

alten Tieren zeigen einen signifikant niedrigeren PVR der Shuntgruppe im Vergleich zum Kontrollkollektiv.

Mittlerweile wurde gezeigt, dass in drei Wochen alten Shuntlammern bei erhöhtem Blutfluss und erhöhtem mPAP ein bestimmtes Verzweigungsmuster der Lungengefäße vergleichbar zum fetalen Verzweigungsmuster weiterpersistiert [24]. In den Gefäßen der Shuntlammern findet durch Umbauvorgänge eine paradoxe Änderung im Gefäßdurchmesser statt, sodass der Gesamtwiderstand aufgrund einer veränderten Gesamtquerschnittsfläche im Vergleich zu den Kontrolltieren niedriger ist. Es muß also davon ausgegangen werden, dass eben diese strukturellen Unterschiede im Zusammenhang mit den hämodynamischen Kräften eine maßgebliche Rolle spielen. Der Zeitpunkt ab dem physiologischerweise ein normales adultes Verzweigungsmuster nach der Geburt besteht ist bislang nicht beschrieben [24].

Das Verzweigungsmuster der Lungengefäße spielt eine wichtige Rolle bei der Interpretation des PVR. Hier gelten wie in einem elektrischen Kreislauf die Kirchhoff'schen Gesetze für parallel- bzw in-Serie-geschaltete Widerstandselemente (Gefäße) (Gleichung 5.5, Gleichung 5.6). Beim Menschen ist bekannt, dass Gefäße aufeinanderfolgender Generation (nach einer Verzweigung) bzgl. ihres Widerstandes in-Serie geschaltet sind. Gefäße der gleichen Generation hingegen sind parallelgeschaltet [35].

Gleichung 5.5

$$\frac{1}{R_{parallel}} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} + \dots + \frac{1}{R_n}$$

Gleichung 5.6

$$R_{serie} = R_1 + R_2 + \dots + R_n$$

Dies ist insbesondere beim Vergleich der erhobenen Daten zu berücksichtigen, da hier die histopathologische Auswertung der gewonnenen Gewebeproben noch aussteht und das vorherrschende Verzweigungsmuster

nicht bekannt ist. Es bestehen Grenzen in der Übertragbarkeit vom erwachsenen Menschen auf neugeborene Lämmer.

Eine entscheidende Rolle auf Gefäßebene spielen endotheliale Vorgänge, die für die Regulation des PVR verantwortlich sind. Diese Vorgänge folgen den Blutflusseigenschaften und Drücken im Lungenkreislauf. Sie scheinen ebenfalls vor allem von den, durch mPAP und  $Q_p$  bestimmten Scherkräften abhängig zu sein. Die Mechanismen der Umsetzung dieser mechanischen Kräfte auf molekulare Ebene sind dabei auch heute noch nicht vollständig geklärt.

Intrauterin sind es vor allem endotheliale Faktoren die einen hohen PVR aufrechterhalten. Dazu gehören neben strukturellen Faktoren (ausgeprägte Muskularisierung, Muster der Gefäßverzweigung) auch endo- und parakrin wirkende Botenstoffe. Eine entscheidende Rolle spielt dabei ein hoher Endothelin 1-(ET1) Spiegel und eine niedrige Stickstoffmonoxid (NO)- sowie Prostaglandin  $I_2$  (Prostacyclin;  $PGI_2$ )-Konzentration [28]. Darüberhinaus weiß man, dass Angiogenese einer der initialen Antworten auf erhöhten Blutfluss in den Gefäßen ist. Es werden hohe VEGF (vascular endothelial growth factor) und VEGF-Rezeptor Konzentrationen gemessen [25, 40].

Extrauterin scheint sich die Gewichtung der endothelialen Faktoren neben initialen mechanischen Ursachen auf die endotheliale NO-Produktion zu verlagern.

In den Lungen 4 Wochen alter Shuntlämmer wurde eine Erhöhung der endothelialen Stickstoffmonoxid Synthase (eNOS) sowie deren mRNA nachgewiesen [5]. Zu diesem Zeitpunkt ist jedoch die vasodilatatorische Funktion von NO bereits beeinträchtigt. Dabei spielen komplexe Regulationsmechanismen in der weiteren Kaskade eine entscheidende Rolle [8]. Im Alter von 8 Wochen ist schließlich die basale NO Produktion zurückgegangen [4, 42].

Kommt es also im Shuntlamm nach der Geburt zu einem Abfall des PVR könnte man annehmen, dass im Alter von drei Tagen die vasodilatatorische Kapazität von NO noch nicht erschöpft und die Aktivität der eNOS noch

erhalten ist. Im Verlauf steigt die eNOS dann an, um eine Steigerung des PVR durch andere Faktoren (Remodelling, Hypertrophie der SMC) zu kompensieren. Im Alter von 8 Wochen wäre das Endothel unter Umständen soweit geschädigt, daß es zum beschriebenen Abfall der NO Produktion kommt.

Neben den bereits aufgezeigten Grenzen des Experimentes sind einige weitere Faktoren zu berücksichtigen. Diese wurde auch schon in der ersten Studie mit diesem Versuchsaufbau bemängelt [45].

So wurden die Untersuchungen allesamt an anästhesierten Tieren durchgeführt. Da sowohl die Shunt-, als auch die Kontrollgruppe unter den jeweils gleichen Bedingungen untersucht wurden, sollten Unterschiede zwischen den Gruppen unabhängig von diesen Faktoren sein.

Fraglich ist, ob die intrauterine Operation Auswirkungen auf die Entwicklung der gesunden Zwillingskontrollen hat. Die Lammföten werden während der Operation über die Plazenta gegenüber einer Vielzahl von Medikamenten, insbesondere Narkotika, exponiert.

Kontrolltiere, die keine Zwillingstiere sind, sind diesen potentiellen Noxen nicht ausgesetzt. In der vorliegenden Versuchsreihe wurde lediglich ein solches Kontrolllamm eingeschlossen.

Desweiteren wurde an keinem der Kontrolltiere intrauterin eine Thorakotomie durchgeführt. Vor allem im Falle der Zwillingskontrollen wäre das mit einem erheblichen Mehraufwand und damit längerer Narkosedauer der Mutter und der Föten darstellen. Durch die unterschiedliche Zugänglichkeit der Föten wäre auch das Operationsrisiko höher. Trotzdem wird die Durchführung einer solchen Scheinoperation in den folgenden Versuchsreihen angestrebt.

Letztendlich ist auch an mögliche Auswirkungen der Shuntanlage auf den pränatalen Kreislauf zu denken. Physiologischerweise nimmt die Lungendurchblutung gegen Ende der Schwangerschaft von anfänglich 4% auf ca. 10% zu [52]. Diese Flusszunahme kann durch das Lungengefäßbett (PVR) einerseits und die Shuntfunktion des DA andererseits reguliert werden. Durch die Anlage eines aortopulmonalen Shunts könnte die

Steigerung der Lungendurchblutung intrauterin ausbleiben, weil das Blut aus der PA über den Shunt einen weiteren Abfluss in die Aorta findet.

Mit diesem Experiment ist es gelungen, die kurz nach Geburt vorherrschende Hämodynamik bei großem angeborenem aortopulmonalem Shunt zu veranschaulichen, ohne die pränatale Kreislagsituation zu beeinträchtigen. Zu diesem Zeitpunkt wird die Lunge zwar überdurchblutet, es herrscht jedoch noch kein pulmonaler Hochdruck. Der PVR ist zu diesem Zeitpunkt bei den Shuntlämmern niedriger. Der linksatriale Druck ist durch die Lungenüberdurchblutung erhöht. Die übrigen hämodynamischen Parameter zeigen zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Insgesamt fügen sich diese, am drei Tage alten Tier erarbeiteten Ergebnisse, in einer Reihe älterer Untersuchungen an älteren Shunt- und Kontrolltieren ein.

Zur weiteren Interpretation der, in dieser Studie erarbeiteten Ergebnisse sind histomorphologische und immunhistochemische Untersuchungen sehr wichtig um die tatsächliche Struktur des Lungengewebes unmittelbar nach Geburt beurteilen zu können. Eine zentrale Frage wird dabei sein, wie die Gesamtquerschnittsfläche der Lungengefäße mit dem errechneten PVR korreliert.

Wie bereits erwähnt ist dabei interessant, dass die sichtbaren und messbaren Veränderungen im Lungengefäßbett der 3 Tage alten Shunttiere vermutlich vor allem auf den erhöhten  $Q_p$  zurückzuführen sind.

Weitere Untersuchungen könnten auch Aufschluss über die potentielle Reversibilität der abgelaufenen Umbauvorgänge zu diesem frühen Zeitpunkt geben

## 6 Zusammenfassung

Die intrauterine Kreislaufsituation des Menschen unterscheidet sich grundlegend von der postnatalen Kreislaufsituation des Neugeborenen.

Für die Anpassung an ein Leben außerhalb des Mutterleibs sind eine Reihe komplexer Anpassungsvorgänge verantwortlich. Entscheidend dabei ist die In-Serie-Schaltung der Lungenstrombahn zur Körperstrombahn und die Unterteilung des fetalen parallelgeschalteten Kreislaufsystems in zwei hintereinandergeschaltete Abschnitte. Diese sind der pulmonale Schenkel mit niedrigen Blutdruckwerten und der arterielle, systemische Schenkel mit hohen Blutdruckwerten, bei jeweils gleicher Volumenbelastung.

Bei angeborenen Herzfehlern mit Links-Rechts-Shunt unterbleibt diese Veränderung. In der Folge kommt es, je nach Ausprägung des Defektes, zu einem erhöhten Lungenblutfluss, einem erhöhten pulmonalarteriellen Blutdruck und teilweise irreversiblen Umbauvorgängen im Lungengefäßbett. Viele der ablaufenden Vorgänge sind dabei mittlerweile verstanden und Ansatzpunkt gezielter therapeutischer Maßnahmen. Trotzdem kommt es bei den Patienten auch unter fortschrittlichen Therapiemaßnahmen immer noch regelhaft zu hoher Morbidität und Mortalität. Dabei beobachtet man vor allem einen erhöhten Lungenblutdruck und histopathologische Veränderungen im Lungengefäßbett.

Was jedoch der Hauptauslöser für die gesamte Pathologie ist und zu welcher Zeit eine besondere Vulnerabilität gegenüber bestimmten Noxen besteht, ist nicht letztendlich geklärt. Ziel dieser Studie ist es deshalb, die Hämodynamik bei großer angeborener aortopulmonaler Verbindung, im Sinne eines großen Links-Rechts-Shunts, zu einem möglichst frühen Zeitpunkt zu beschreiben.

In 13 Lammföten wurde dafür, nach einer bereits etablierten Methode, intrauterin eine aortopulmonale Gefäßanastomose mittels eines Kunststoff-Shunts platziert (Shuntgruppe). Sieben dieser Tiere wurden drei Tage nach ihrer Geburt hämodynamisch untersucht und mit einem Kontrollkollektiv von acht gleichaltrigen Lämmern verglichen (Kontrollgruppe).

Drei Tage postnatal zeigen sich nur wenige signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Bemerkenswert ist dabei die streng drucktrennende, restriktive Funktion des Shunts. Bei signifikant erhöhtem Blutfluss in den Lungengefäßen ist drei Tage nach der Geburt der pulmonalarterielle Druck nicht signifikant erhöht. Der pulmonale Gefäßwiderstand ist in der Shuntgruppe, im Vergleich zur Kontrollgruppe, signifikant erniedrigt. Das konnten auch vorausgehende Studien mit ähnlichem Versuchsaufbau bei späterem Untersuchungszeitpunkt (8, 21, 28 und 56 Tage) zeigen. Zudem wiesen zu diesen späteren Zeitpunkten die Shunttiere einen signifikant erhöhten mittleren pulmonalarteriellen Druck auf. Der linksatriale Druck ist wahrscheinlich durch die Überdurchblutung der Lunge erhöht.

Potentielle Veränderungen in dieser frühen Phase können damit vermutlich zu einem großen Teil dem erhöhten Blutfluss durch das Lungengefäßbett zugeordnet werden, da im drei Tage alten Shuntlamm der pulmonalarterielle Blutdruck noch nicht signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht ist. Der niedrige pulmonalvaskuläre Widerstand könnte eine Art Schutzfunktion darstellen.

Wie genau er zustande kommt, ist ohne weitere Untersuchungen auf morphologischer und histopathologischer Ebene noch nicht zu beantworten, da strukturelle Unterschiede im Vergleich zu den Kontrolltieren eine entscheidende Rolle zu spielen scheinen.

Zum signifikant erhöhten pulmonalarteriellen Druck kommt es, wie vergleichbare Studien zeigen, erst in der Folge.

Wie in einer Vielzahl vorausgegangener Studien sind einige Grenzen des Experiments aufzuzeigen. Insbesondere die auf physikalischen Grundlagen berechneten Widerstandswerte sind oft nicht uneingeschränkt auf den lebenden Organismus zu übertragen. Darüberhinaus schränken fehlende intrauterine Operationen am Kontrolltier und Anästhesie während der

hämodynamischen Untersuchung die Allgemeingültigkeit der Interpretation ein.

Letztendlich ist auch eine gewisse Beeinträchtigung der intrauterinen Zirkulation nach Shuntanlage nicht vollständig auszuschließen.

Trotzdem vermitteln diese Daten, in Zusammenschau mit den bisher erworbenen Ergebnissen ähnlicher Studien, einen wichtigen Hintergrund für zukünftige morphologische, immunhistochemische und molekularbiologische Untersuchungen.

Über die Reversibilität der Vorgänge zu diesem frühen Zeitpunkt kann keine Aussage getroffen werden.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Abman, S.H., Recent advances in the pathogenesis and treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Neonatology*, 2007. 91(4): p. 283-90.
2. Bancalari, E., N. Claure und A. Gonzalez, Patent ductus arteriosus and respiratory outcome in premature infants. *Biol Neonate*, 2005. 88(3): p. 192-201.
3. Black, S.M., J.M. Bekker, M.J. Johengen, A.J. Parry, S.J. Soifer und J.R. Fineman, Altered regulation of the ET-1 cascade in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Pediatr Res*, 2000. 47(1): p. 97-106.
4. Black, S.M., J.M. Bekker, D.M. McMullan, A.J. Parry, B. Ovadia, O. Reinhartz, S. Lakshminrushimha, E. Mata-Greenwood, R.H. Steinhorn und J.R. Fineman, Alterations in nitric oxide production in 8-week-old lambs with increased pulmonary blood flow. *Pediatr Res*, 2002. 52(2): p. 233-44.
5. Black, S.M., J.R. Fineman, R.H. Steinhorn, J. Bristow und S.J. Soifer, Increased endothelial NOS in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Am J Physiol*, 1998. 275(5 Pt 2): p. H1643-51.
6. Black, S.M., M.J. Johengen, Z.D. Ma, J. Bristow und S.J. Soifer, Ventilation and oxygenation induce endothelial nitric oxide synthase gene expression in the lungs of fetal lambs. *J Clin Invest*, 1997. 100(6): p. 1448-58.

7. Black, S.M., E. Mata-Greenwood, R.W. Dettman, B. Ovadia, R.K. Fitzgerald, O. Reinhartz, S. Thelitz, R.H. Steinhorn, R. Gerrets, K. Hendricks-Munoz, G.A. Ross, J.M. Bekker, M.J. Johengen und J.R. Fineman, Emergence of smooth muscle cell endothelin B-mediated vasoconstriction in lambs with experimental congenital heart disease and increased pulmonary blood flow. *Circulation*, 2003. 108(13): p. 1646-54.
8. Black, S.M., L.S. Sanchez, E. Mata-Greenwood, J.M. Bekker, R.H. Steinhorn und J.R. Fineman, sGC and PDE5 are elevated in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001. 281(5): p. L1051-7.
9. Chesney, C.F. und J.R. Allen, Animal model: pulmonary hypertension, cor pulmonale and endocardial fibroelastosis in monocrotaline-intoxicated nonhuman primates. *Am J Pathol*, 1973. 70(3): p. 489-92.
10. Chin, K.M. und L.J. Rubin, Pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 2008. 51(16): p. 1527-38.
11. Dakshinamurti, S., Pathophysiologic mechanisms of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatr Pulmonol*, 2005. 39(6): p. 492-503.
12. Dawes, G.S., Pulmonary circulation in the foetus and new-born. *Br Med Bull*, 1966. 22(1): p. 61-5.
13. Dawes, G.S., J.C. Mott und J.G. Widdicombe, The foetal circulation in the lamb. *J Physiol*, 1954. 126(3): p. 563-87.
14. Dawes, G.S., J.C. Mott, J.G. Widdicombe und D.G. Wyatt, Changes in the lungs of the new-born lamb. *J Physiol*, 1953. 121(1): p. 141-62.

15. Eisenmenger, V., Die angeborenen Defekte der Kammerscheidewand des Herzens. *Z Klin Med.*, 1897. 32(Suppl): p. 1-28.
16. Enhorning, G., F.H. Adams und A. Norman, Effect of lung expansion on the fetal lamb circulation. *Acta Paediatr Scand*, 1966. 55(5): p. 441-51.
17. Fineman, J.R., S.J. Soifer und M.A. Heymann, Regulation of pulmonary vascular tone in the perinatal period. *Annu Rev Physiol*, 1995. 57: p. 115-34.
18. Fishman, N.H., R.B. Hof, A.M. Rudolph und M.A. Heymann, Models of congenital heart disease in fetal lambs. *Circulation*, 1978. 58(2): p. 354-64.
19. Franklin, K.J., A.E. Barclay und M.M. Prichard, Some observations on the cardio-vascular system in the viable foetal lamb. *J Anat*, 1940. 75(Pt 1): p. 75-87.
20. Fratz, S., B. Meyrick, B. Ovadia, M.J. Johengen, O. Reinhartz, A. Azakie, G. Ross, R. Fitzgerald, P. Oishi, J. Hess, S.M. Black und J.R. Fineman, Chronic endothelin A receptor blockade in lambs with increased pulmonary blood flow and pressure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004. 287(3): p. L592-7.
21. Galie, N., H.A. Ghofrani, A. Torbicki, R.J. Barst, L.J. Rubin, D. Badesch, T. Fleming, T. Parpia, G. Burgess, A. Branzi, F. Grimminger, M. Kurzyna und G. Simonneau, Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*, 2005. 353(20): p. 2148-57.

22. Garne, E., Atrial and ventricular septal defects - epidemiology and spontaneous closure. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2006. 19(5): p. 271-6.
23. Gersony, W.M., C.J. Hayes, D.J. Driscoll, J.F. Keane, L. Kidd, W.M. O'Fallon, D.R. Pieroni, R.R. Wolfe und W.H. Weidman, Second natural history study of congenital heart defects. Quality of life of patients with aortic stenosis, pulmonary stenosis, or ventricular septal defect. *Circulation*, 1993. 87(2 Suppl): p. I52-65.
24. Ghorishi, Z., J.M. Milstein, F.R. Poulain, A. Moon-Grady, T. Tacy, S.H. Bennett, J.R. Fineman und M.W. Eldridge, Shear stress paradigm for perinatal fractal arterial network remodeling in lambs with pulmonary hypertension and increased pulmonary blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007. 292(6): p. H3006-18.
25. Gorenflo, M., E. Herpel, M.V. Ullmann, K. Rohlig, S. Demirakca, H. Klimpel, S. Hagl, M.M. Gebhard und P.A. Schnabel, Pulmonary vascular changes in piglets with increased pulmonary blood flow and pressure. *Virchows Arch*, 2007. 450(6): p. 643-52.
26. Hagen, P.T., D.G. Scholz und W.D. Edwards, Incidence and size of patent foramen ovale during the first 10 decades of life: an autopsy study of 965 normal hearts. *Mayo Clin Proc*, 1984. 59(1): p. 17-20.
27. Hall, S.M. und S.G. Haworth, Normal adaptation of pulmonary arterial intima to extrauterine life in the pig: ultrastructural studies. *J Pathol*, 1986. 149(1): p. 55-66.
28. Haworth, S.G., Role of the endothelium in pulmonary arterial hypertension. *Vascul Pharmacol*, 2006. 45(5): p. 317-25.

29. Heath, D. und J.E. Edwards, The pathology of hypertensive pulmonary vascular disease; a description of six grades of structural changes in the pulmonary arteries with special reference to congenital cardiac septal defects. *Circulation*, 1958. 18(4 Part 1): p. 533-47.
30. Herget, J. und F. Palecek, Experimental chronic pulmonary hypertension. *Int Rev Exp Pathol*, 1978. 18: p. 347-406.
31. Heymann, M.A., Control of the pulmonary circulation in the fetus and during the transitional period to air breathing. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1999. 84(2): p. 127-32.
32. Heymann, M.A. und A.M. Rudolph, Effect of exteriorization of the sheep fetus on its cardiovascular function. *Circ Res*, 1967. 21(5): p. 741-5.
33. Hislop, A. und L. Reid, Pulmonary arterial development during childhood: branching pattern and structure. *Thorax*, 1973. 28(2): p. 129-35.
34. Hoffman, J.I. und S. Kaplan, The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol*, 2002. 39(12): p. 1890-900.
35. Huang, W., R.T. Yen, M. McLaurine und G. Bledsoe, Morphometry of the human pulmonary vasculature. *J Appl Physiol*, 1996. 81(5): p. 2123-33.
36. Kaemmerer, H. und J. Hess, [Adult patients with congenital heart abnormalities: present and future]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2005. 130(3): p. 97-101.

37. Leffler, C.W., J.R. Hessler und R.S. Green, The onset of breathing at birth stimulates pulmonary vascular prostacyclin synthesis. *Pediatr Res*, 1984. 18(10): p. 938-42.
38. Lemons, J.A., C.R. Bauer, W. Oh, S.B. Korones, L.A. Papile, B.J. Stoll, J. Verter, M. Tempresa, L.L. Wright, R.A. Ehrenkranz, A.A. Fanaroff, A. Stark, W. Carlo, J.E. Tyson, E.F. Donovan, S. Shankaran und D.K. Stevenson, Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child health and human development neonatal research network, January 1995 through December 1996. NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*, 2001. 107(1): p. E1.
39. Mandegar, M., Y.C. Fung, W. Huang, C.V. Remillard, L.J. Rubin und J.X. Yuan, Cellular and molecular mechanisms of pulmonary vascular remodeling: role in the development of pulmonary hypertension. *Microvasc Res*, 2004. 68(2): p. 75-103.
40. Mata-Greenwood, E., B. Meyrick, S.J. Soifer, J.R. Fineman und S.M. Black, Expression of VEGF and its receptors Flt-1 and Flk-1/KDR is altered in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003. 285(1): p. L222-31.
41. McMullan, D.M., J.M. Bekker, A.J. Parry, M.J. Johengen, A. Kon, R.S. Heidersbach, S.M. Black und J.R. Fineman, Alterations in endogenous nitric oxide production after cardiopulmonary bypass in lambs with normal and increased pulmonary blood flow. *Circulation*, 2000. 102(19 Suppl 3): p. III172-8.
42. Oishi, P.E., D.A. Wiseman, S. Sharma, S. Kumar, Y. Hou, S.A. Datar, A. Azakie, M.J. Johengen, C. Harmon, S. Fratz, J.R. Fineman und S.M. Black, Progressive dysfunction of nitric oxide synthase in a lamb

- model of chronically increased pulmonary blood flow: a role for oxidative stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008. 295(5): p. L756-66.
43. Ovadia, B., O. Reinhartz, R. Fitzgerald, J.M. Bekker, M.J. Johengen, A. Azakie, S. Thelitz, S.M. Black und J.R. Fineman, Alterations in ET-1, not nitric oxide, in 1-week-old lambs with increased pulmonary blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003. 284(2): p. H480-90.
  44. Plestina, R. und H.B. Stoner, Pulmonary oedema in rats given monocrotaline pyrrole. *J Pathol*, 1972. 106(4): p. 235-49.
  45. Reddy, V.M., B. Meyrick, J. Wong, A. Khor, J.R. Liddicoat, F.L. Hanley und J.R. Fineman, In utero placement of aortopulmonary shunts. A model of postnatal pulmonary hypertension with increased pulmonary blood flow in lambs. *Circulation*, 1995. 92(3): p. 606-13.
  46. Reddy, V.M., J. Wong, J.R. Liddicoat, M. Johengen, R. Chang und J.R. Fineman, Altered endothelium-dependent responses in lambs with pulmonary hypertension and increased pulmonary blood flow. *Am J Physiol*, 1996. 271(2 Pt 2): p. H562-70.
  47. Reller, M.D., M.J. Rice und R.W. McDonald, Review of studies evaluating ductal patency in the premature infant. *J Pediatr*, 1993. 122(6): p. S59-62.
  48. Roos, A., Poiseuille's law and its limitations in vascular systems. *Med Thorac*, 1962. 19: p. 224-38.
  49. Rosenkrantz, J.G., J.H. Carlisle, F.P. Lynch und J.H. Vogel, Ligation of a single pulmonary artery in the pig: a model of chronic pulmonary hypertension. *J Surg Res*, 1973. 15(1): p. 67-73.

50. Rosenkranz, S., Pulmonary hypertension: current diagnosis and treatment. *Clin Res Cardiol*, 2007. 96(8): p. 527-41.
51. Rudolph, A., *Congenital Diseases of the Heart*. Vol. 1. 1975: Year Bk. Med. Pub. 646.
52. Rudolph, A.M., The changes in the circulation after birth. Their importance in congenital heart disease. *Circulation*, 1970. 41(2): p. 343-59.
53. Rudolph, A.M., Fetal and neonatal pulmonary circulation. *Annu Rev Physiol*, 1979. 41: p. 383-95.
54. Rudolph, A.M., *Congenital Diseases of the Heart: Clinical-Physiological Considerations*, ed. A. Rudolph. Vol. 2. 2001: Futura Publishing Company, New York.
55. Rudolph, A.M. und M.A. Heymann, Circulatory changes during growth in the fetal lamb. *Circ Res*, 1970. 26(3): p. 289-99.
56. Ruiz, U., G.J. Piasecki, K. Balogh, B.J. Polansky und B.T. Jackson, An experimental model for fetal pulmonary hypertension. A preliminary report. *Am J Surg*, 1972. 123(4): p. 468-71.
57. Sadowski, S.L., Congenital cardiac disease in the newborn infant: past, present, and future. *Crit Care Nurs Clin North Am*, 2009. 21(1): p. 37-48, vi.
58. Simonneau, G., N. Galie, L.J. Rubin, D. Langleben, W. Seeger, G. Domenighetti, S. Gibbs, D. Lebrec, R. Speich, M. Beghetti, S. Rich

- und A. Fishman, Clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 2004. 43(12 Suppl S): p. 5S-12S.
59. Stenmark, K.R., E.C. Orton, J.T. Reeves, N.F. Voelkel, E.C. Crouch, W.C. Parks und R.P. Mecham, Vascular remodeling in neonatal pulmonary hypertension. Role of the smooth muscle cell. *Chest*, 1988. 93(3 Suppl): p. 127S-133S.
60. Tiktinsky, M.H. und F.C. Morin, 3rd, Increasing oxygen tension dilates fetal pulmonary circulation via endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol*, 1993. 265(1 Pt 2): p. H376-80.
61. van Albada, M.E. und R.M. Berger, Pulmonary arterial hypertension in congenital cardiac disease - the need for refinement of the Evian-Venice classification. *Cardiol Young*, 2008: p. 1-8.
62. Vongpatanasin, W., M.E. Brickner, L.D. Hillis und R.A. Lange, The Eisenmenger syndrome in adults. *Ann Intern Med*, 1998. 128(9): p. 745-55.
63. Wood, P., The Eisenmenger syndrome or pulmonary hypertension with reversed central shunt. *Br Med J*, 1958. 2(5099): p. 755-62.

## 8 Danksagung

Allem voraus möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. John Hess für die Überlassung des Themas danken. Er gab mir die Möglichkeit in der Klinik für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler am Deutschen Herzzentrum München diese Arbeit durchzuführen.

Besonderer Dank gilt meinem Betreuer und Arbeitsgruppenleiter Herrn Dr. Sohrab Fratz für die umfangreiche Unterstützung. Seine professionellen Anregungen trugen wesentlich zur Planung und Durchführung der Arbeit bei. Weiterhin danke ich der stellvertretenden Arbeitsgruppenleiterin Frau Susanne Naumann, die für die Betreuung von veterinärmedizinischer Seite verantwortlich war und den Versuchsaufbau koordinierte.

Darüber hinaus danke ich allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe, insbesondere Frau Judith Reiser und Herrn Sebastian Haag, für die überaus produktive und freundschaftliche Zusammenarbeit, sowie Frau Tina Meichner für die Überlassung zahlreicher Fotografien, die diese Arbeit illustrieren.

Weiterer Dank gilt den kooperierenden Kliniken und Instituten und deren Leitern Herrn Prof. Dr. Rüdiger Lange (Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie am DHM), Herrn Prof. Dr. Thoams Brill (Zentrum für Präklinische Forschung am Klinikum Rechts der Isar der TUM) sowie all deren Mitarbeiter, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonders hervorzuheben ist dabei die ausgezeichnete Zusammenarbeit mit den Herzchirurgen Herrn PD Dr. Christian Schreiber und Herrn Dr. Zsolt Prodan, deren chirurgisches Geschick und zeitliche Flexibilität dieses Experiment erst möglich gemacht haben.