

Richard Hummel

Dr.med.

## **Ein neues Ischämie-Reperfusion-Modell der Skelettmuskulatur zur Entwicklung eines Konservierungsverfahrens und erste Ergebnisse zur Hypothermie**

Geboren am 25.11.1975 in Freiburg im Breisgau

Reifeprüfung am 22.06.1995 in Bruchsal

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1997 bis WS 2003/2004

Physikum am 25.03.1999 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg / Flawil (Schweiz) / Sydney (Australien)

Staatsexamen am 11.12.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Frau Prof. Dr. med. M.M. Gebhard

Konservierung von Skelettmuskulatur ist seit langem ein experimentelles und klinisches Thema. Dennoch besteht bis heute kein Verfahren, das die Ischämietoleranz von Skelettmuskeln in ähnlicher Weise verbessert wie dies für Organe wie Herz, Lunge, Leber, Niere und andere seit vielen Jahren möglich ist und klinisch genutzt wird. Vor diesem Hintergrund war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, zunächst ein Ischämie-Reperfusion-Modell zu etablieren, welches nicht wie die Anlage eines Tourniquets, ein Gefäßclipping oder ein Muskel-Flap spezifische Schäden setzt, die intra- und postischämische Ergebnisse zur Ischämietoleranz überlagern können. Zur Verifikation des entwickelten Modells sollte anschließend untersucht werden, ob und in welchem Umfang muskuläre Ischämietoleranz durch Hypothermie von 5°C gegenüber 25°C beeinflusst wird.

Als Modell dienten die Extensoren des Hinterlaufs vom Hund in situ, aber ex vivo. Dazu wurde der Hinterlauf des Tieres nach einer präischämischen Perfusion in vivo mit kalter, pH-stabilisierter Ringerlösung im Knie unter Erhaltung der neuralen und vaskulären Versorgung der Extensorenloge exartikuliert, für definierte Ischämiezeiten bei 25°C oder 5°C ischämisch gelagert, und danach jeweils in einer eigens

konzipierten Apparatur eingespannt und über 120 Minuten mit einer salinen, substrat- und kolloidhaltigen, oxygenierten Lösung bei Normothermie reperfundiert. Die Reperfusion erfolgte unter Druckkontrolle flussgesteuert. Über die Reperfuionszeit wurden „arterielle“ und „venöse“ Proben zur Analyse der Sauerstoffversorgung, des pH-Werts, der Kalium- und Laktatverschiebungen entnommen und funktionell die maximale Kraftantwort auf indirekte Muskelstimulation quantifiziert. Bei Reperfuionsende wurden Muskelproben zur biochemischen Analyse entnommen.

Die wesentlichen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Während und nach der Reperfusion „in situ“ wurden in einer Kontrollgruppe, die nach der Vorperfusion in vivo aus Präparationsgründen für jeweils 90 Minuten ischämisch war, über die Reperfuionszeit konstante und nicht-Ischämie-belasteten Muskeln entsprechende Werte ermittelt. Einzig die gemessene maximale Kraftentwicklung nahm über die Reperfuionszeit signifikant von  $5.7 \pm 0.4$  N/100g FG auf  $4.0 \pm 0.4$  N/100g FG ab ( $p < 0.05$ ). Die Energieladung nach Beendigung der Reperfusion betrug im Mittel 0.94. Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten sich nach längeren Ischämiezeiten bei gleicher Temperatur zu Beginn der Reperfusion signifikante Abweichungen. Nach 4 oder 6 Stunden Ischämie bei 25°C erreichten alle Parameter mit Ausnahme der maximalen Kraftentwicklung innerhalb von 40-50 bzw. 70 Minuten Reperfusion wieder Kontrollniveau. Die maximale Kraftentwicklung in den 25°C-Gruppen erreichte nach 4 Stunden Ischämie noch rund 50%, nach 6 Stunden Ischämie lediglich noch rund 10% der Kontrollwerte. Nach 8 Stunden Ischämie bei 25°C fanden sich in allen Messparametern signifikante Abweichungen gegenüber der Kontrollgruppe. Außerdem entstand ein ausgeprägtes Reperfuionsödem, so dass die Reperfusion dieser Gruppe nach 60 Minuten abgebrochen werden musste.

Eine Absenkung der muskulären Ischämietemperatur von 25°C auf 5°C führte bei ebenfalls 8 Stunden Ischämiezeit zu einer signifikanten Verbesserung aller Erholungsparameter. Die Ergebnisse erreichten dieselbe Größenordnung wie in der Gruppe mit 4 Stunden Ischämie bei 25°C. 10 Stunden Ischämie bei 5°C beeinträchtigten die Ergebnisse statistisch nicht gegenüber 8 Stunden bei 5°C. Im Temperaturbereich zwischen 25°C und 5°C verbessert somit eine Absenkung der Muskeltemperatur um 20°C die muskulären Ischämietoleranz um gut den Faktor 2.

Eine präischämische, kalte Perfusion der Skelettmuskulatur anstelle von reiner Ischämie durch Unterbrechung der Zirkulation führte bei Ischämietemperaturen von 25°C über rund 8 Stunden zu einer Verzögerung des Abfalls der energiereichen Phosphate sowie des Anstiegs des Laktatgehalts. Beträgt die Ischämietemperatur 5°C so ist dieser Effekt noch nach 15 Stunden Ischämiezeit nachweisbar. Das bedeutet, dass eine rasche und homogene präischämische Abkühlung der Muskulatur die Ischämietoleranz verbessert.

Die vorgestellten Befunde bestätigen in etwa die Angaben der Literatur und die klinischen Erfahrungen, dass 90 Minuten Muskelischämie bei Raumtemperatur weitgehend ohne funktionelle Defizite toleriert wird und die Grenze der Ischämietoleranz unter diesen Bedingungen mit etwa 6 bis 8 Stunden anzunehmen ist. Damit ist das neue Modell nicht nur gut und reproduzierbar standardisiert, sondern auch geeignet, Methoden der Verbesserung der muskulären Ischämietoleranz im Sinne einer Organkonservierung zu entwickeln, die gegenüber reiner Ischämie durch Unterbrechung der Blutzirkulation etwa an einer Leber einen Zugewinn an klinisch nutzbarer Ischämietoleranzzeit von bis zu 24 Stunden bewirkt.