



DOPPELSEITIGE IN VITRO PERFUSION VON MENSCHLICHEM PLAZENTAGEWEBE: PERMEABILITÄT FÜR HYDROPHILE STOFFE.*

H. Schneider, R. Sodha, M. Proegler, Klinik und Poliklinik für
Geburtshilfe, Arbeitsgruppe für Perinatalphysiologie, Universität
Zürich.

Einleitung

Trotz der einheitlichen Funktion der Plazenta, die in der Versorgung und dem Schutz des Feten in utero besteht, hat die Entwicklung dieses Organs bei verschiedenen Säugetierarten zu einer Vielzahl von Varianten geführt und unterscheidet sich in diesem Punkt deutlich von anderen Organen, wie etwa Herz, Niere oder Leber. Die Mannigfaltigkeit der Differenzierung betrifft den makroskopischen Aufbau, wobei die Weiterentwicklung des Trophoblasten zu einem Austauschorgan für fetales und mütterliches Blut unter Einbeziehung der gesamten Chorionoberfläche erfolgen kann, oder wie etwa beim Schaf zu der Entwicklung zahlreicher verstreut liegender Kötyledone führt. Beim Primaten kommt es zur Ausbildung von einer oder zwei scheibenförmig angelegter Plazenten. Darüberhinaus finden sich tiefgreifende Unterschiede im mikroskopischen Bereich, die von Grosser nach Anzahl der am Aufbau der Barriere zwischen mütterlichem und fetalem Blut beteiligten Zellschichten klassifiziert wurde (10). Auf die Bedeutung der morphologischen Unterschiede für die Permeabilität wurde erstmals von Flexner und Gellhorn hingewiesen (9). Der Transfer von Natriumionen erfolgt durch die 6-schichtige epitheliochoriale Plazenta des Schafes, in der der volle Satz mütterlicher Gewebsschichten erhalten ist, erheblich langsamer als durch die nur 3-schichtige haemochoriale Plazenta, in der nach Zersetzung der oberflächlichen Deziduaschichten sowie der mütterlichen



Gefaesswand des Chorionepithel unmittelbar von dem muetterlichen Blut umspuelt wird. Die durch den unterschiedlichen histologischen Aufbau bedingten Permeabilitaetsunterschiede betreffen vor allem Ionen und andere hydrophile Stoffe, waehrend Gase und hochgradig lipidloesliche Substanzen nicht davon betroffen sind. Die Permeabilitaet fuer diese Stoffe wird in erster Linie von der Durchblutungsgroesse sowie der geometrischen Anordnung von muetterlichem und fetalen Blutstrom bestimmt, welche weitere charakteristische Speziesunterschiede aufweisen.

Da die Moeglichkeiten fuer in vivo Untersuchungen der Permeabilitaet der Plazenta beim Menschen aus naheliegenden Gruenden begrenzt sind, fand fruehzeitig eine Hinwendung zum Tierversuch statt. Aus dem, was oben ueber die Mannigfaltigkeit der Organentwicklung bei den verschiedenen Spezies gesagt wurde, wird jedoch deutlich, dass Erkenntnisse zur Physiologie der Plazenta in ihrer Gueltigkeit haeufig auf die gewaehlte Versuchstierart beschraenkt bleiben, wobei fuer die Auswahl nicht selten praktisch-technische Gesichtspunkte bestimmend sind. So ist fuer die Plazenta- und auch Fetalphysiologen das Schaf zu dem bevorzugten und mit Abstand am meisten verwandten Versuchstier geworden, das aber gravierende Unterschiede in Bau und Funktionsweise der Plazenta im Vergleich zum Primaten aufweist.

Der Plazentaforschung bietet sich auf der anderen Seite die einzigartige Moeglichkeit, Untersuchungen an dem menschlichen Organ direkt vorzunehmen, das nach der Geburt in praktisch unbegrenzter Zahl zur Verfuegung steht. Verschiedene Ansaetze zu der Entwicklung einer doppelseitigen Perfusion der isolierten menschlichen Plazenta fuer Untersuchungen von Austauschvorgaengen wie auch des Stoffwechsels haben die betraechtlichen Schwierigkeiten dieses Vorgehens deutlich gemacht, (11, 14, 15, 17). Wir konnten ein neues Verfahren zur doppelseitigen Perfusion eines isolierten Lobus der menschlichen Plazenta entwickeln (20), das sich ueber die Jahre bewaehrt hat und inzwischen auch von anderen Arbeitsgruppen uebernommen worden ist. (3, 4, 6, 20, 28).



Im folgenden wird das Prinzip der Versuchsanordnung kurz geschildert. Unsere Befunde zur Permeabilität der menschlichen Plazentarmembran für hydrophile Substanzen sollen anschliessend die Möglichkeiten aufzeigen, die die doppelseitige in vitro Perfusion bietet, und gleichzeitig die Speziesunterschiede und die damit vorgegebenen Grenzen des Tierversuches illustrieren.

METHODE

Perfusionsanordnung

Für die Versuche werden menschliche Plazenten verwandt, die von unkomplizierten Schwangerschaften stammen und wenige Minuten nach der Geburt verfügbar sind. Nach Inspektion des Organs wird ein geeigneter Lobus ausgewählt und der versorgende arterielle und venöse Choriongefässast wird katheterisiert. Nach Fixierung der Katheter durch eine Ligatur erfolgt der Anschluss an einen Perfusionskreislauf und die Zottenkapillaren, die der fetalen Blutstrombahn entsprechen, werden durchspült. Nach Entfernung des restlichen Gewebes wird der präparierte Lobus in einen Haltering eingespannt und dieser wird in einer Perfusionskammer montiert, die durch einen Warmwasserkreislauf temperiert wird. Die Chorionoberfläche mit den katheterisierten Gefässen und zuführenden Schlauchverbindungen zeigt nach unten, und durch eine Öffnung im Dach der Perfusionskammer besteht Zugang zu der Dezidualseite. Auf dieser zeichnet sich bedingt durch die Spülung der Kapillaren ein heller Bezirk ab, in dem 5 Metallkatheter (Durchmesser 600 μ) unter stumpfer Perforation der oberflächlichen Gewebsschicht in den Zwischenzottenraum eingeführt werden. Durch die Metallkanülen, die über einen Verteiler an einen zweiten Perfusionskreislauf angeschlossen sind, gelangt Perfusionsmedium in den intervillösen Raum (IVR), dem



Stroemungsgebiet des muetterlichen Blutes. Der Abfluss erfolgt durch venose Oeffnungen in der Deziduaplatte und das austretende Perfusionsmedium wird mit Hilfe einer Ueberlaufvorrichtung aufgefangen. Waehrend die Durchstroemung der Zottenkapillaren 8-10 Minuten nach Erhalt der Plazenta beginnt, werden zur Erstellung des gesamten Perfusionspraeparates 20-30 Minuten benoetigt. Muetterliches und fetales Stroemungskompartiment eines isolierten Plazentalobus werden von 2 getrennten Perfusionskreislaeufen durchstroemt, wobei die "Plazentarmembran" die Trennwand bildet (Abb.1).

Die Stroemungsrate betraegt im fetalen Kreislauf 8-10 und im muetterlichen 12-14 ml/min bei einem mittleren Perfusionsdruck im Zottenkapillarkreislauf von 35-65 mmHg. Als Perfusionsmedium benutzen wir ein Gemisch aus gepufferter Elektrolytloesung nach Earle und einem Gewebekulturmedium (NCTC 190, Difco, Michigan USA) im Verhaeltnis 1:2 mit einer Glukosekonzentration von 100 mg% und einem Zusatz von 2 g/l Humanserumalbumin. Die Perfusionsloesungen befinden sich in einem Wasserbad bei 38 C und werden fortlaufend mit einem Gasgemisch von 95 % O₂ und 5 % CO₂ begast. Nach Durchlaufen des Perfusionskreislaufes und vor Eintritt in die Perfusionskammer wird der Temperaturverlust im Medium in beiden Kreislaeufen durch eine elektronisch gesteuerte Durchflusshheizung korrigiert. Kontrollmessungen von PO₂, PCO₂ und Ph werden zu Versuchsbeginn sowie in Abstaenden waehrend des Versuches durchgefuehrt.

VERSUCHSPROTOKOLL

Nach einer anfaenglichen Kontrollphase von 30 min werden aufeinanderfolgend 3 Proben vom venoesen Rueckfluss im muetterlichen und fetalen Kreislauf ueber je 1 min gesammelt. Das Sammelvolumen der Proben dient zur Bestimmung der Stroemungsrate in den beiden Kreislaeufen. Gleichzeitig werden entsprechende Proben von den arteriellen Schenkeln entnommen. Aus dem



arteriovenösen Konzentrationsunterschied und der betreffenden Stroemungsrate koennen Verbrauch von Glukose sowie Produktion von Laktat und Pyruvat berechnet werden.

Die fuer die Bestimmung der Permeabilitaet verwandten Testsubstanzen sind in Tab.3 mit ihrem Koeffizienten fuer freie Diffusion in Wasser, der dem Molekulargewicht proportional ist, aufgelistet.

^{14}C -Erythritol wurde von Radiochemical Centre, Amersham, England, bezogen, waehrend unmarkiertes sowie markiertes Fenoterol grosszuegigerweise von der Fa Boehringer, Ingelheim, zur Verfuegung gestellt wurde. Alle uebrigen Isotope stammen von New England Nuclear Mass., USA, und die unmarkierten Substanzen wurden von der Fluka AG, Schweiz, bezogen. Die jeweilige Testsubstanz wurde in einer Konzentration von 60mg/l mit Zusatz des radioaktiven Markers dem Perfusionsmedium zugegeben, mit dem waehrend 30 min bei konstanter Stroemungsrate das muetterliche Kompartiment perfundiert wurde. Das fetale Perfusionsmedium enthielt weder markierte noch unmarkierte Testsubstanz. Am Ende einer 30-minuetigen Aequilibrierungsphase wurden aufeinanderfolgend 3 Proben ueber jeweils 1 min an den venoesen Abfluessen beider Kreislaeufe gesammelt. Das Perfusionsmedium passierte das Gewebe lediglich einmal. In einem Versuch wurden in aufeinanderfolgenden Perfusionsphasen bis zu 3 verschiedene Testsubstanzen geprueft, wobei 30min Spuelphasen mit Medium ohne Testsubstanz zwischen 2 Versuchsphasen geschaltet wurden. Eine alternierende Sequenz der Versuchsabschnitte bei verschiedenen Versuchen diente der Randomisierung eines eventuellen Einflusses der Versuchsdauer auf die Permeabilitaet.

Wegen des zu erwartenden sehr niedrigen Transfers von Albumin wurde in 4 Versuchen ein konstantes Volumen von 50 ml auf der fetalen Seite rezirkuliert, waehrend das muetterliche Perfusionsmedium, dass ^{14}C -Albumin und ^3H -Inulin enthielt, wie in den uebrigen Versuchen nur einmal den IVR durchfloss. Durch halbstuendliche Probenentnahmen aus dem fetalen Kreislauf wurde



die Anreicherung von radioaktivem Material ueber die Versuchsdauer von 3 Stunden bestimmt.

ANALYSEN

Der Nachweis von Glukose, Laktat und Pyruvat wurde enzymatisch vorgenommen und erfolgte auf einem Technikon Autoanalyzer. Die Radioaktivitaet wurde mit Hilfe der Fluessigkeitsszintillation gemessen.

BERECHNUNGEN

Der Verbrauch von Glukose ist gleich der Summe der aus dem muetterlichen und fetalen Perfusionskreislauf an das Gewebe abgegebenen Menge und errechnet sich nach der Formel:

$$(C_{Ma} - C_{Mv}) \cdot Q_m + (C_{Fa} - C_{Fv}) \cdot Q_f$$

Dabei sind C_{Ma} , C_{Mv} , C_{Fa} und C_{Fv} arterielle bzw. venoese Konzentration im muetterlichen bzw. fetalen Kreislauf, waehrend Q_m und Q_f fuer die jeweilige Stroemungsrate stehen. Entsprechend ergibt sich die Produktion von Laktat und Pyruvat aus der Summe der in den muetterlichen und fetalen Kreislauf abgegebenen Stoffmengen und errechnet sich aus der gleichen Formel, wobei der venoes-arterielle Konzentrationsunterschied an die Stelle der arterio-venoesen Differenz tritt.

Die Permeabilitaet einer Membran fuer passiv diffundierende Stoffe leitet sich aus dem Diffusionsgesetz von Fick ab und ist definiert als das Verhaeltnis von Diffusionsgeschwindigkeit und dem zwischen beiden Kompartments gegebenen mittleren Konzentrationsunterschied. Die Berechnung der Permeabilitaet P wurde nach folgender Formel vorgenommen:

$$P = \frac{(C_{Fv} - C_{Fa}) \cdot Q_f}{(C_{Ma} - C_{Fa}) \cdot G}$$



und hat die Einheit ml/min/g.

Unter den geschilderten Versuchsbedingungen ohne Rezirkulation ist $F_a = 0$ und G ist das Feuchtgewicht des perfundierten Lobus in g. Für die Bestimmung der Permeabilität von Albumin wurde die während der Gesamtdauer des Versuches in den fetalen Kreislauf uebergetretene Menge von Albumin eingesetzt:

$$P = \frac{C_{FvR} \cdot V}{C_{Ma} \cdot T \cdot G}$$

C_{FvR} ist die im fetalen Kreislauf am Versuchsende gemessene Konzentration, V das Gesamtvolumen des rezirkulierenden Mediums und T die Dauer der Rezirkulation. Der Einfluss von F_a auf den mittleren transplazentaren Konzentrationsunterschied ist wegen des sehr geringen Transfers zu vernachlässigen.

Ergebnisse

Für die Ueberwachung der metabolischen Vitalität des Gewebes wurden Glukoseverbrauch sowie Produktion von Laktat und Pyruvat bestimmt (Tab. 1). Abgesehen von einer initial erhöhten Anflutung von Laktat blieben die ueberwachten Stoffwechselfparameter während der bis zu 3-stündigen Versuchsdauer konstant.

Erythritol, Glukose und Sukrose sind Zucker mit unterschiedlichem Molekulargewicht, wobei die L-Form von Glukose kein Substrat für den carrierbeschleunigten Transfer darstellt. Fenoterol und Hexoprenalin haben eine stimulierende Wirkung auf β_2 adrenerge Rezeptoren und werden für die Unterdrückung vorzeitiger Wehentaetigkeit verwandt.

Die Permeabilität nimmt für die 8 Testsubstanzen mit zunehmendem Molekulargewicht (MG) ab (Tab.2). Dabei konnte für den Bereich



von Harnstoff (MG 60) bis Inulin (MG 5000) eine enge Korrelation zwischen Permeabilität und Molekulargröße gezeigt werden (Abb.2).

In den für die Bestimmung der Albumin-Permeabilität vorgenommenen Versuchen mit Rezirkulation des fetalen Kreislaufes blieb die Konzentration von radioaktivem Albumin auf der fetalen Seite auch nach 2-stündiger Rezirkulation unter 1 % des mütterlichen Spiegels und auch Inulin stieg lediglich auf 5% an. Die auf Grund dieser Versuche berechnete Permeabilität ist für Albumin deutlich niedriger als nach der mit Hilfe der übrigen Substanzen bestimmten Korrelation zu erwarten wäre (Abb.2).

Diskussion

Die doppelseitige in vitro Perfusion eines isolierten Lobus der menschlichen Plazenta ist in erster Linie für Untersuchungen des transplazentaren Stoffaustausches wie auch des Eigenstoffwechsels von Plazentagewebe verwandt worden (21, 24, 16, 25). Entscheidend für den Wert jeder isolierten Organperfusion ist die Erhaltung der Vitalität und Funktionstüchtigkeit des Gewebes. Systematische Messungen des Sauerstoffverbrauches ergaben Werte, die mit den für die menschliche Plazenta unter in vivo Bedingungen angegebenen Schätzwerten gut übereinstimmen (5). Ferner konnte mit dieser Versuchsanordnung ein stereospezifischer aktiver Transport von Aminosäuren und eine ebenfalls stereospezifische beschleunigte Diffusion von Glukose zweifelsfrei gezeigt werden (22, 23). Enzymatische Stoffwechselvorgänge im Plazentagewebe, die zum Abbau sowie Umbau verschiedener Substanzen führen, bleiben zumindest teilweise in ihrer Aktivität erhalten,



wie Untersuchungen mit Kortikosteroiden und Katecholaminen ergeben haben (16, 25). Unsere eigenen Befunde zum Stoffwechsel und zum Stofftransport konnten inzwischen groesstenteils von verschiedenen Arbeitsgruppen bestaetigt und erweitert werden.(3, 4, 6, 20, 28).

In der geschilderten Versuchsserie wurde die Vitalitaet des Gewebes durch Messungen von Glukoseverbrauch sowie Produktion von Laktat und Pyruvat ueberwacht. Der mittlere Verbrauch von Glukose betrug $0,140 \mu\text{M}/\text{min}/\text{g}$ und stimmt gut mit den Ergebnissen anderer Autoren ueberein, die teils mit Hilfe der Gewebeinkubation teils mit Hilfe der in vitro Organperfusion ermittelt wurden (13, 17). Auf die relativ hohe interexperimentelle Schwankung der Stoffwechseldaten ist von anderer Seite hingewiesen worden (13). Bemerkenswert ist die hohe Laktatproduktion, die nicht ein Ausdruck von Hypoxie darstellt, sondern typisch fuer embryonales Gewebe ist und auch fuer Plazentagewebe verschiedener Tierspezies unter unterschiedlichen experimentellen Bedingungen beschrieben wurde (23).

Die hohe Permeabilitaet der Plazenta fuer Gase sowie gut lipidloesliche Substanzen ist durch die lipidreichen Zellmembranstrukturen bedingt. Die pro Zeiteinheit passierende Menge wird neben der Austauschoberflaeche und dem Konzentrationsgefaele in erster Linie durch die haemodynamischen Groessen bestimmt. Neben der muetterlichen und fetalen Stroemungsrate ist das Stroemungsmuster oder die Anordnung der Flussrichtung in beiden Kreislaeufen entscheidend fuer die Effizienz der Austauschvorgaenge. Speziesunterschiede im plazentaren Austausch dieser Stoffgruppe erklaren sich durch Unterschiede in den haemodynamischen Groessen.

Fuer viele hydrophile nicht lipidloesliche Substanzen ist die Zellmembran mehr oder weniger undurchlaessig und die



Permeabilität der Plazenta wird in erster Linie von der Anordnung der Trennschichten bestimmt. Wie bereits eingangs erwähnt finden sich für verschiedene Spezies beträchtliche Unterschiede in dem Schichtenaufbau der Plazentarmembran und darüber hinaus weisen die verschiedenen Schichten wassergefüllte Poren auf, die einen sehr unterschiedlichen Durchmesser haben. Stoffwechselmaessig inerte hydrophile Substanzen können die Plazentarmembran auf dem Wege durch diese extrazellulären Spalträume passieren und die Diffusionsrate ist über einen bestimmten Bereich unterschiedlicher Molekülgrößen dem Diffusionskoeffizienten in Wasser proportional, wobei die Porenweite zum limitierenden Faktor wird. Durch Verwendung von Teststoffen mit unterschiedlicher Molekülgrösse lässt sich der Bereich, über den die Beziehung zwischen Permeabilität und Diffusionskoeffizient in Wasser konstant ist, experimentell eingrenzen. Mit Hilfe des Moleküldurchmessers, bei dem ein plötzlicher Abfall der Permeabilität auftritt und das Verhältnis der beiden Größen nicht mehr gegeben ist, lässt sich eine Abschätzung der Porengrösse vornehmen. Dieses Vorgehen wurde zuerst von Pappenheimer für die Untersuchung der Permeabilität von Kapillarwänden beschrieben (19).

Die mit Hilfe der in vitro Perfusion für die menschliche Plazenta bestimmte Permeabilität für Harnstoff beträgt $0,047 \text{ cm}^3/\text{min/g}$ und findet sich in guter Übereinstimmung mit dem beim Kaninchen bestimmten Wert (7, 26), während sie etwas unterhalb der bei der Plazenta des Rhesusaffen gefundenen Permeabilität liegt (1). Die für Inulin gemessene Permeabilität ist allerdings deutlich höher als in der Kaninchenplazenta. Über den in unserer Versuchsreihe untersuchten Bereich unterschiedlicher Molekulargewichte, der sich von Harnstoff mit einem MG von 60 bis zu Inulin mit einem MG von 5000 erstreckt, war nur eine geringfügige Abnahme des Verhältnisses von Permeabilität zum Diffusionskoeffizienten festzustellen, so dass die Porengrösse kein Hindernis für Moleküle von der Grösse des Inulins, und möglicherweise darüberhinaus, darstellt (Tab.2). Beim

Makromolekuel Albumin ist dagegen das Verhaeltnis von Permeabilitaet zu Diffusionskoeffizient deutlich erniedrigt, so dass zusaetzlich zu der durch die Molekuelgroesse bedingten Verlangsamung der Diffusion eine raeumliche Behinderung wirksam wird. Da in dem Bereich von Inulin (MG 5000) bis Albumin (MG 60000) keine weiteren Substanzen untersucht wurden, kann nicht gesagt werden, bei welcher Molekuelgroesse die "sterisch" bedingte Diffusionseinschraenkung beginnt.

Fuer die ebenfalls haemochoriale Plazenta von Meerschweinchen und Kaninchen wurde mit aehnlichen Untersuchungen auch ein annaehrend konstantes Verhaeltnis zwischen Permeabilitaet und Diffusionskoeffizient ueber einen weiten Bereich unterschiedlicher Molekuelgroessen festgestellt. Auf Grund dieser Befunde wird die Porengroesse der haemochorialen Plazenta dieser beiden Tierspezies mit 10-20 nm (7, 12, 26) angegeben. Die Plazentarmembran weist damit Poren auf, die deutlich groesser sind als die Spalten, die sich im Endothel von Muskelkapillaren finden.

In ausgepraegtem Gegensatz zu diesen Befunden an der haemochorialen Plazenta stehen die Ergebnisse an der epitheliochorialen Plazenta des Schafes. Es kommt bereits fuer Erythritol (MG 120) zu einer starken Beeintraechtigung der Permeabilitaet und die Porenweite, die mit 0,45 nm bestimmt wurde, ist mit den fuer die Erythrozytenmembran angegebenen Oeffnungen vergleichbar. Die Plazenta des Schafes stellt fuer



hydrophile Stoffe mit einem Molekulargewicht von 200 eine weitgehend undurchlässige Barriere dar und unterscheidet sich hierin wesentlich von haemochorialen Plazenten verschiedener Spezies einschliesslich des Menschen. Analogieschlüsse bezüglich der Permeabilität von der Schafplazenta auf die Plazenta des Menschen sind nicht zulaessig. Dies ist besonders auch bei der Interpretation von Befunden zum Uebertritt von Medikamenten vom mütterlichen in das fetale Blut zu berücksichtigen. Für die Gruppe der Betablocker wurde gezeigt, dass die Schafplazenta das gut lipidlösliche Propranolol und auch Oxprenolol ungehindert passieren lässt, während für die neueren hydrophilen Substanzen, wie z.B. Solatolol Undurchlässigkeit besteht (27). Dagegen darf es auf Grund unserer Befunde keine Überraschung sein, dass nach Behandlung der Mutter vor der Geburt mit Solatolol im Nabelschnurblut gleich hohe Konzentrationen wie im mütterlichen Blut gefunden wurden (18).

Zusammenfassend stellen wir fest, dass Versuche an verschiedenen Tierspezies für die Erhellung bestimmter Aspekte der Physiologie der menschlichen Plazenta ungeeignet oder sogar irreführend sein können. Die beschriebene Versuchsanordnung zur doppelseitigen in vitro Perfusion der menschlichen Plazenta bietet sehr gute Voraussetzungen für die Untersuchung einer Vielzahl von Fragestellungen, deren Beantwortung für ein besseres Verständnis der Physiologie wie auch für die klinische Geburtshilfe gleichermaßen von Bedeutung sein kann.



*Mit Unterstuetzung des Schweizerischen Nationalfonds.

Anschrift des Erstautors: PD Dr.H.Schneider,

Klinik und Poliklinik fuer
Geburtshilfe, Universitaets-
Frauenklinik Zuerich
Frauenklinikstrasse 10
8091 Zuerich



LITERATUR

1.

Battaglia, F.C., Behrmann, R.E., Meschia, G., Seeds, A.E., Bruns, P.:

Clearance of inert molecules, Na, and Cl ions across the primate placenta.

Am. J. Obstet. Gynecol. 102:1135, 1968.

2.

Boyd, R.D.H., Haworth, C., Stacey, T.E., Ward, R.H.T.

Permeability of the sheep placenta to unmetabolized non-electrolytes.

Am. J. Physiol. 256:617, 1976.

3.

Brandes, J.M., Tavoloni, N., Potter, B.J., Sarkoni, L., Shepard, MD., Berk, P.D.

A new recycling technique for human placental cotyledon perfusion : application to studies of the fetomaternal transfer of glucose, inulin and antipyrine.

Am. J. Obstet. Gynecol. 146:800, 1983.

4.

Carstensen, M., Leichtweiss, H.P., Molsen, G., Schroeder, H.



Evidence for a specific transport of D-hexoses across the human term placenta in vitro.

Arch. Gynaekol. 222:187, 1977.

5.

Challier, J.-C., Schneider, H., Dancis, J.

In vitro perfusion of human placenta V. Oxygen consumption.

Am. J. Obstet. Gynaecol. 126:261, 1976.

6.

Contractor, S.F. and Stannard, P.J.

The use of AJB transport to assess the suitability of a system of human placental perfusion for drug transport studies.

Placenta, 4:19, 1983.

7.

Faber, J.J., Green, Th.J., Long, L.R.

Permeability of rabbit placenta to large molecules.

Am. J. Physiol. 220:688, 1971.

8.

Faber, J.J.

Diffusional exchange between fetus and mother as a function of the physical properties of the diffusing materials. In: Foetal and



Neonatal Physiology, K.S. Comline, K.W. Cross, G.S. Dawes, P.W. Nathanielsz, p. 306, Cambridge University Press, 1973.

9.

Flexner, L.B., Gellhorn, A.

The comparative physiology of placental transfer.

Am. J. Obstet. Gynaecol. 43:965, 1942.

10.

Grosser, A.

Fruehentwicklung, Eihautbildung und Placentation des Menschen und der Saeugetiere.

Deutsche Frauenheilk., Bd. 5, J.F. Bergmann, Muenchen, 1927.

11.

Hamrin, C.E., Conger, W.L., Lindstrom, R.N., Shier, R.W., Dilts, P.V.

Placental perfusion device.

Am. J. Obstet. Gynecol. 110:422, 1971.

12.

Hedley, R., Bradburg, M.W.B.

Transport of polar non-electrolytes across the intact and perfused guinea-pig placenta.



Placenta 1:277, 1980.

13.

Holzman, J.R., Philipps, A.F., Battaglia, F.C.

Glucose metabolism, lactate and ammonia production by the human placenta in vitro.

Pediatr. Res. 13:117, 1979.

14.

Krantz, K.E., Panos, T.C., Evans, J.

Physiology of maternal-fetal relationship through the extracorporeal circulation of the human placenta.

Am. J. Obstet. Gynaecol. 83:1214, 1962.

15.

Lemtis, H., Kirchner, H., Gagel, R.

Die beidseitige Dauerperfusion menschlicher Plazenten in vitro.

Arch. Gynaek. 216:409, 1974.

16.

Levitz, M., Jansen, V., Dancis, J.

The transfer and metabolism of corticosteroids in the perfused human placenta.

Am. J. Obstet. Gynaecol. 132:363, 1978.



17.

Nesbitt, R.E.L., Rice, P.A., Rourke, J.E.

In vitro perfusion studies of the human placenta III. The relationship between glucose utilization rates and concentration. Gynecol. Invest. 4:243, 1973.

18.

O Hare, M.F., Murnaghan, G.A., Russell, C.J., Leahey, W.J., Verma, M.P.S., Mc Devitt, D.G.

Solatolol as a hypotensive agent in pregnancy.

Brit. J. Obstet. Gynaecol. 87:814, 1980.

19.

Pappenheimer, J.R., Renkin, E.M., Borrero, L.M.

Filtration diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes. A contribution to the pore theory of capillary permeability.

Am. J. Physiol. 167:13, 1951.

20.

Penfold, P., Drury, L., Simmonds, R., Hytten, F.E.

Studies of a single placental cotyledon in vitro: I The preparation and its viability.



Placenta 2:149, 1981.

21.

Schneider, H., Panigel, M., Dancis, J.

Transfer across the perfused human placenta of antipyrine, sodium and leucine.

Am. J. Obstet. Gynecol. 114:822, 1972.

22.

Schneider, H., Moehlen, K.-H., Dancis, J.

Transfer of amino acids across the in vitro perfused human placenta.

Pediat. Res. 13:236, 1979.

23.

Schneider, H., Challier, J.C., Dancis, J.

Transfer and metabolism of glucose and lactate in the human placenta studied by a perfusion system in vitro.

Placenta (Suppl.2):129, 1981.

24.

Sodha, R.J., Schneider, H.

Transplacental transfer of betaadrenergic drugs studied by an in vitro perfusion method of an isolated human placental lobule.



Am. J. Obstet. Gynecol. 147:303, 1983.

25.

Sodha, R.J., Proegler, M., Schneider, H.

Transfer and metabolism of norepinephrine studied from maternal to fetal and fetal to maternal side in the in vitro perfused human placental lobe.

Am. J. Obstet. Gynecol. Im Druck

26.

Stulc, J., Friedrich, R., Jiricka, Z.

Estimation of the equivalent pore dimensions in the rabbit placenta.

Life Sciences., 8:167, 1969.

27.

Trueloeve, J.F., van Petten, G.R., Willes, R.F.

Action of several α -adrenoceptor blocking drugs in the pregnant sheep and foetus.

Brit. J. Pharmac. 47:161, 1973.

28.

Wier, J.P., Miller, R.K., Maulik, D., di Sant Agnese, P.A.



Bidirectional transfer of aminoisobutyric acid by the perfused human placental lobule.

Trophoblast Research 1, 1983, Im Druck

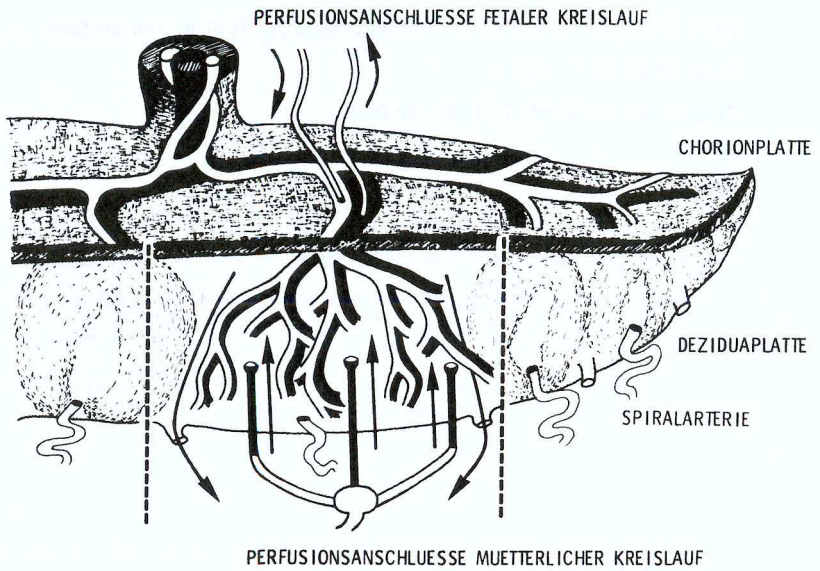


Abb. 1

Anatomische Grundlage fuer die doppelseitige in vitro Perfusion eines isolierten Lobus der Plazenta des Menschen.

DOPPELSEITIGE IN VITRO PERFUSION EINES ISOLIERTEN LOBUS DER MENSCHLICHEN PLAZENTA
PERMEABILITÄT FÜR HYDROPHILE SUBSTANZEN

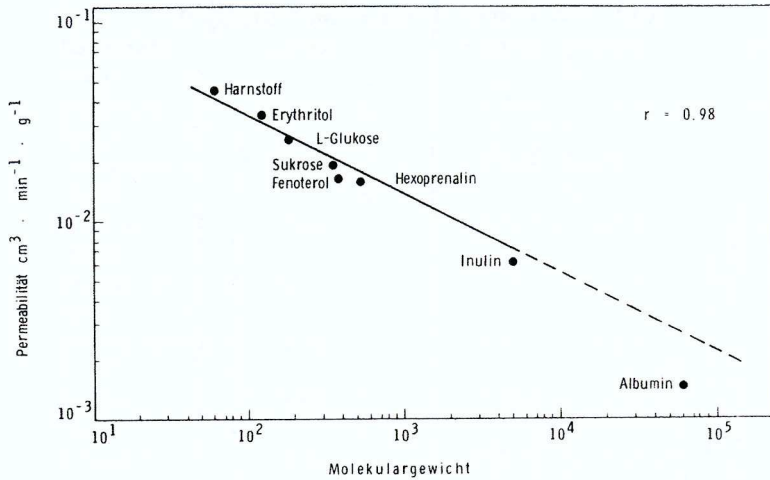


Abb.2

Verhaeltnis von Permeabilitaet zu Molekulargewicht fuer 8 hydrophile Substanzen.

TAB. 1

STOFFWECHSELDATEN FÜR DOPPELSEITIG IN VITRO PERFUNDIERTES
MENSCHLICHES PLAZENTAGEWEBE

VERBRAUCH VON GLUKOSE N = 10	PRODUKTION VON LAKTAT N = 11	PRODUKTION VON PYRUVAT N = 9	FEUCHTGEWICHT IN G N = 11
0.140 ± 0.070	0.318 ± 0.063	0.017 ± 0.007	36.2 ± 6.1

ALLE ANGABEN STELLEN MITTELWERTE ± SE DAR. GLUKOSEVERBRAUCH UND PRODUKTION VON LAKTAT
UND PYRUVAT SIND IN $\mu\text{M}/\text{MIN}/\text{G}$ ANGEZEIGT, N STEHT FÜR DIE ANZAHL DER PERFUNDIERTEN PLAZENTEN.





Testsubst.	Diffusions- koeff.(D)	Permeabil.(P)	P : D
	$D \frac{W}{37} \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \times \text{sec}^{-1}$	$\text{cm}^3 \times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$	
Harnstoff (n=4)	16.00	* 0.047 $\pm$ 0.008	51
Erythritol (n=4)	11.5	0.032 $\pm$ 0.006	47
L-Glucose (n=6)	9.85	0.023 $\pm$ 0.005	40
Sucrose (n=5)	7.50	0.019 $\pm$ 0.004	42
Fenoterol (n=5)	7.20	0.017 $\pm$ 0.004	39
Hexoprenalin (n=3)	6.50	0.016 $\pm$ 0.004	38
Inulin (n=5)	2.80	0.006 $\pm$ 0.002	34
Albumin (n=4)	0.91	0.0015 $\pm$ 0.0003	24
		* Mittel $\pm$ SE	

Tab. 4.

Permeabilität und Koeffizient fuer freie Diffusion in Wasser fuer 8 verschiedene Testsubstanzen. Die Bestimmung des Diffusionskoeffizienten erfolgte nach der von Faber (8) angegebenen Formel. N = Anzahl der Bestimmungen, wiedergegeben sind Mittelwerte $\pm$ S.E.