

**Aus der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin**

**Arbeitsgruppe Experimentelle Anästhesie**

**der Medizinischen Fakultät der Charité -Universitätsmedizin Berlin**

**DISSERTATION**

Untersuchungen von Nierenfunktionsparametern zur Beschreibung des akuten  
Nierenversagens der extrakorporal normotherm perfundierten porcinen  
Schlachthausniere

**zur Erlangung des akademischen Grades**

**Doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt der**

**Medizinischen Fakultät**

**Charité-Universitätsmedizin Berlin**

**von**

**Thomas Krössin**

**aus der Freien und Hansestadt Hamburg**

**Gutachter:**

Prof. Dr. med. G. Kaczmarzyk

Priv.-Doz. Dr. med. D. Sandrock

Priv.-Doz. Dr. med. R.I. Rückert

**Datum der Promotion:** 23.03.2007

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>10</b>
1.1	Entwicklungsgeschichte der extrakorporalen Organperfusion .....	10
1.2	Organkonservierung .....	12
1.3	Perfusionslösung .....	14
1.4	Pumpsysteme.....	15
1.5	Nierenphysiologie .....	17
1.6	Nierenfunktionsdiagnostik: Inulin- und Kreatinin-Clearance als Maß der GFR ..	19
1.7	Akutes Nierenversagen .....	21
1.8	Ziel der Untersuchungen .....	23
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>24</b>
2.1.	Herkunft der Tiere und Datenbasis .....	24
2.2	Vorbereitung zur Organentnahme .....	24
2.3	Entnahme der Nieren.....	24
2.4	Nierenkonservierung .....	25
2.5	Präparation der Nierengefäße.....	26
2.6	Weiterverarbeitung des autologen Blutes .....	26
2.7	Blutumlauf im Perfusionkreislauf .....	27
2.8	Erwärmung der Niere und Perfusionsstart .....	27
2.9	Flußvolumen des Perfusionssystems.....	28
2.10	Aufbau der Perfusionseinheit .....	28
2.11	Sammelperioden während der „steady-state“ Nierenperfusion.....	31
2.12	Funktionsparameter der isoliert perfundierten Schlachthofniere .....	32
2.13	Testprinzip der Sinistrin <sup>®</sup> (Inulin like) Bestimmung.....	34
2.13.1	Darstellung der Reaktionsabläufe .....	36
2.13.2	Schritt 1: Sinistrin <sup>®</sup> Hydrolyse.....	36
2.13.3	Schritt 2: Fruktose Phosphorylierung.....	36
2.13.4	Schritt 3: Fruktose Isomerisierung.....	36
2.13.5	Berechnung der Sinistrin <sup>®</sup> -Konzentration in Plasma und Harn.....	36
2.13.6	Arbeitsschritte zur Makrobestimmung von Sinistrin <sup>®</sup> im Plasma und Harn .....	38
2.13.7	Sinistrin <sup>®</sup> -Standards und Verdünnungsreihen zur Qualitätskontrolle.....	39
2.14	Bestimmung der Sinistrin <sup>®</sup> - und Kreatinin-Clearance in-vivo Kontrollgruppe....	39
2.15	Testprinzip der N-Acetyl-β-D-glucosaminidase (β-NAG) Bestimmung.....	40

2.15.1	Darstellung der Reaktionsabläufe $\beta$ -NAG: .....	41
2.15.2	Arbeitsschritte zur Bestimmung von $\beta$ - NAG:.....	41
2.16	Bestimmung von $\beta$ -NAG Referenzwerten.....	42
2.17	Bestimmung von Kreatinin im Plasma, Urin und Dialysat.....	42
2.18	Statistische Auswertung.....	43
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>45</b>
3.1	Sinistrin <sup>®</sup> - Messung.....	45
3.1.1	Qualitätskontrollen von Sinistrin <sup>®</sup> .....	46
3.2	Vergleich der Sinistrin <sup>®</sup> - und Kreatinin-Clearance.....	48
3.3	Schlachtvorgang .....	52
3.3.1	Organischämie.....	52
3.3.2	Nierengewicht .....	52
3.4	Hämodynamik der isoliert perfundierten Schlachthausniere .....	53
3.4.1	Arteriell-renaler Perfusionsdruck .....	53
3.4.2	Renal-venöser Druck.....	54
3.4.3	Perfusionsfluss .....	54
3.4.4	Renaler Gefäßwiderstand .....	55
3.4.5	Hämatokrit.....	58
3.4.6	Freies Hämoglobin im Plasma .....	59
3.5	Nierenfunktionsparameter der isoliert perfundierten Schlachthausniere .....	60
3.5.1	Sauerstoffverbrauch .....	60
3.5.2	Glomeruläre Filtrationsrate Kreatinin versus Sinistrin.....	61
3.5.3	Harnvolumen .....	64
3.5.4	Filtrationsfraktion.....	65
3.5.5	Tubuläre Natrium-Rückresorption .....	66
3.5.6	Natrium-Exkretion .....	67
3.5.7	Osmolalität im Plasma.....	69
3.5.8	Osmolalität im Urin.....	69
3.5.9	Kolloidosmotischer Druck im Plasma.....	72
3.5.10	Tubuläres $\beta$ -NAG .....	73
3.5.11	Kaliumkonzentration im Plasma .....	74
3.6	Vergleich ausgewählter Nierenfunktionsparameter: beste vs. schlechteste Niere.....	76
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>80</b>
4.1	Methodendiskussion Organgewinnung .....	81

4.1.1	Einfluß des Schlachtvorgangs auf die Organgüte .....	81
4.2	Veränderungen der Inuquant <sup>®</sup> -Methode für Sinistrin <sup>®</sup> .....	82
4.2.1	Chemische Eigenschaften Sinistrin <sup>®</sup> versus Inulin .....	84
4.2.2	Vergleich verschiedener Sinistrin <sup>®</sup> - und Inulin-Messmethoden .....	84
4.2.3	Vergleich verschiedener Kreatinin-Messmethoden .....	86
4.2.4	Sinistrin <sup>®</sup> - (Inulin like) versus Kreatinin-Clearance .....	91
4.2.5	Vergleich von Clearance-Methoden mittels statistischer Verfahren.....	93
4.3.	Nierenfunktionsparameter im Verlauf der „steady-state“ Perfusion.....	94
4.3.1	Einfluss der Reperfusionsschäden auf die Nierenfunktionsparameter .....	95
4.3.2	Einfluss der Ischämie auf die Nierenfunktionsparameter.....	96
4.3.3	Proteinurie der isoliert perfundierten Schlachthausniere.....	99
4.3.4	Calcium-Antagonisten und Polyethylenglykol zur Nierenprotektion .....	99
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung.. .....</b>	<b>101</b>
<b>6.</b>	<b>Addendum.....</b>	<b>132</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>133</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Perfusionseinheit. ....	30
Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf von der Organgewinnung „steady-state“ Nierenperfusion. ....	30
Abbildung 3: Molekulare Strukturformel von Sinistrin <sup>®</sup> (Inuline like) und Inulin. ....	35
Abbildung 4: Darstellung eines „Box-and-Whisker“ .....	44
Abbildung 5: Sinistrin <sup>®</sup> in Aqua dest .....	46
Abbildung 6: Sinistrin <sup>®</sup> in-vivo Vollblut .....	46
Abbildung 7: Sinistrin in definierten Standards der Fa. Fresenius .....	46
Abbildung 8: Zeitliche Verteilung Kreatininbolus im Plasma, Dialysat und Urin .....	47
Abbildung 9: Zeitliche Verteilung Sinistrinbolus im Plasma, Dialysat und Urin.....	47
Abbildung 10: Clearance von Sinistrin <sup>®</sup> und Kreatinin; Niere im „steady-state“ .....	48
Abbildung 11: Clearance Sinistrin und Kreatinin; in-vivo Kontrollgruppe .....	49
Abbildung 12: MW der Diff. Sinistrin <sup>®</sup> - und Kreatinin-Clearance: t.-perf. = 20 min.....	50
Abbildung 13: MW der Diff. Sinistrin <sup>®</sup> - und Kreatinin-Clearance: t.-perf. = 40 min.....	50
Abbildung 14: MW der Diff. Sinistrin <sup>®</sup> - und Kreatinin-Clearance: t.-perf. = 60 min.....	51
Abbildung 15: MW der Diff. Sinistrin <sup>®</sup> - und Kreatinin-Clearance: t.-perf. = 80 min.....	51
Abbildung 16: MW der Diff. Sinistrin <sup>®</sup> - und Kreatinin-Clearance: t.-perf. = 100 min.....	51
Abbildung 17: MW der Diff. Sinistrin <sup>®</sup> - und Kreatinin-Clearance; in-vivo Kontrolle .....	51
Abbildung 18: Nierengewichte der Schlachthausniere .....	52
Abbildung 19: Arteriell-renaler Perfusionsdruck; Niere im steady-state.....	53
Abbildung 20: Perfusionsfluss; Niere im steady-state“ .....	54
Abbildung 21: Renaler Gefäßwiderstand; Niere im „steady-state“ .....	56
Abbildung 22: Renaler Gefäßwiderstand Gruppe I vs. Gruppe II .....	57
Abbildung 23: Hämatokrit; Niere im „steady-state“ .....	58
Abbildung 24: Freies Hämoglobin im Plasma nativ, präperfusionem und im „steady-state“ ..	59
Abbildung 25: Sauerstoffverbrauch; Niere im „steady-state“ .....	60
Abbildung 26: Sinistrin <sup>®</sup> -Clearance vs. in-vivo Kontrollgruppe .....	61
Abbildung 27: Kreatinin-Clearance vs. in-vivo Kontrollgruppe .....	62
Abbildung 28: Kreatinin-Clearance Gruppe I vs. Gruppe II .....	62
Abbildung 29: Sinistrin <sup>®</sup> -Clearance Gruppe I vs. Gruppe II .....	63
Abbildung 30: Harnvolumen; Niere im „steady-state“ .....	64
Abbildung 31: Filtrationsfraktion; Niere im „steady-state“ .....	65
Abbildung 32: Tubuläre Natrium-Rückresorption; Niere im „steady-state“ .....	66
Abbildung 33: Natrium-Exkretion; Niere im „steady-state“ .....	67

Abbildung 34: Tubuläre Natrium-Exkretion Gruppe I vs. II .....	68
Abbildung 35: Osmolalität im Plasma; Niere im „steady-state“.....	69
Abbildung 36: Osmolalität im Urin; Niere im „steady-state“ .....	70
Abbildung 37: Osmolalität im Urin der Gruppe I vs. II .....	71
Abbildung 38: KOD im Plasma nativ, präperfusionem und im „steady-state“ .....	72
Abbildung 39: $\beta$ -NAG im Urin, Niere im "steady-state" vs. in-vivo Kontrollgruppe .....	73
Abbildung 40: Kalium im Plasma; Niere im „steady-state“ .....	74
Abbildung 41: Kalium im Plasma Gruppe I vs. Gruppe II .....	75
Abbildung 42: Beste vs. schlechteste Niere: FF und RVR .....	76
Abbildung 43: Beste vs. schlechteste Niere: Na-Rückresorption und Sauerstoffverbrauch ..	77
Abbildung 44: Beste vs. schlechteste Niere: Kalium im Plasma und $\beta$ -NAG im Urin.....	78
Abbildung 45: Beste vs. schlechteste Niere: Kreatinin- und Sinistrin <sup>®</sup> -Clearance.....	79

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Nephrologische Daten von Mensch und Schwein .....	19
Tabelle 2: Zusammensetzung der PEG Konservierungslösung .....	26
Tabelle 3: Zusammensetzung der Dialysatlösung (Tyrode-Lösung). .....	31
Tabelle 4: Formeln zur Berechnung von Nierenfunktionsparameter.....	33
Tabelle 5: Extinktionskoeffizienten von NADH.....	37
Tabelle 6: Testkombination $\beta$ - NAG Boehringer-Ingelheim, Mannheim, Deutschland.....	42
Tabelle 7: Sinistrin <sup>®</sup> -Messung lt. Herstellerangaben vs. Modifikation .....	83
Tabelle 8: Hb im Plasma nativ, präperfusionem und im „steady-state“.....	107
Tabelle 9: Hb Gruppe I Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem < 30%.....	107
Tabelle 10: Hb Gruppe II Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem > 30%.....	107
Tabelle 11: Tubuläres $\beta$ -NAG im Urin; Niere im „steady-state“.....	108
Tabelle 12: Tubuläres $\beta$ -NAG im Urin; in-vivo Kontrollgruppe .....	109
Tabelle 13: $\beta$ -NAG im Urin Gruppe I Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem .....	109
Tabelle 14: $\beta$ -NAG im Urin Gruppe II .....	109
Tabelle 15: Proteinkonzentration im Urin präperfusionem und im „steady-state“.....	110
Tabelle 16: Albuminkonzentration im Urin präperfusionem und im steady-state.....	111
Tabelle 17: Plasmaosmolalität nativ, präperfusionem und im „steady-state“.....	112
Tabelle 18: Plasmaosmolalität Gruppe I Nierengewichtszunahme prä- postperfusionem ...	112
Tabelle 19: Plasmaosmolalität Gruppe II.....	112
Tabelle 20: Urinosmolalität nativ, präperfusionem und im „steady-state“.....	113
Tabelle 21: Urinosmolalität Gruppe I Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem .....	113
Tabelle 22: Urinosmolalität Gruppe II.....	113
Tabelle 23: Kreatinin-Clearance zu den Perfusionszeitpunkten; Niere im „steady-state“....	114
Tabelle 24: Krea-Clearance Gruppe I Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem.....	114
Tabelle 25: Krea-Clearance Gruppe II .....	114
Tabelle 26: Sinistrin <sup>®</sup> -Clearance zu den Perfusionszeitpunkten; Niere im „steady-state“...	115
Tabelle 27: Freies Plasmahämoglobin nativ, präperfusionem und im “steady-state“.....	116
Tabelle 28: Tubuläre Na-Exkretion Perfusionszeitpunkten und im „steady-state“.....	117
Tabelle 29: Na-Exkretion Gruppe I; Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem .....	117
Tabelle 30: Na-Exkretion Gruppe II; .....	117
Tabelle 31: Tubuläre Na-Rückresorption im Urin; Niere im „steady-state“ . .....	118
Tabelle 32: Na-Rückresorption Gruppe I; Nierengewichtszunahme prä-postperfusionem .	118
Tabelle 33: Na-Rückresorption Gruppe II Nierengewichtszunahme prä-postperfusionem .	118

Tabelle 34: Sauerstoffverbrauch; Niere im „steady-state“ .....	119
Tabelle 35: Sauerstoffverbrauch Gruppe I Nierengewichtszunahme prä-postperfusionem	119
Tabelle 36: Sauerstoffverbrauch Gruppe II .....	119
Tabelle 37: Warme und kalte Ischämie-Dauer .....	120
Tabelle 38: Nierengewicht nativ, prä- und postperfusionem. ....	121
Tabelle 39: Arterieller renaler Perfusionsdruck; Niere im „steady-state“. ....	122
Tabelle 40: Renalvenöser Druck; Niere im „steady-state“. ....	123
Tabelle 41: Renalvenöser Druck Gruppe I Nierengewichtszunahme prä- postperfusionem	123
Tabelle 42: Renalvenöser Druck Gruppe II .....	123
Tabelle 43: Perfusionsfluß zu den Perfusionszeitpunkten; Niere im „steady-state“ .....	124
Tabelle 44: Perfusionsfluß Gruppe I Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem.....	124
Tabelle 45: Perfusionsfluß Gruppe II .....	124
Tabelle 46: Renaler Gefäßwiderstand; Niere im „steady-state“. ....	125
Tabelle 47: Gefäßwiderstand Gruppe I Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem ...	125
Tabelle 48: Gefäßwiderstand Gruppe II Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem ..	125
Tabelle 49: Hämatokrit (%) im Plasma in nativ, präperfusionem und im „steady-state“ .....	126
Tabelle 50: Filtrationsfraktion (%); Niere im „steady-state“. ....	127
Tabelle 51: Filtrationsfraktion Gruppe I Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem...	127
Tabelle 52: Filtrationsfraktion Gruppe II .....	127
Tabelle 53: Harnvolumen; Niere im „steady-state“ .....	128
Tabelle 54: Harnvolumen Gruppe I Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem.....	128
Tabelle 55: Harnvolumen Gruppe II .....	128
Tabelle 56: Kalium im Plasma nativ, präperfusionem und im „steady-state“. ....	129
Tabelle 57: Kalium Gruppe I Nierengewichtszunahme prä - postperfusionem.....	129
Tabelle 58: Kalium Gruppe II .....	129
Tabelle 59: Kolloidosmotischer Druck nativ, präperfusionem und im „steady-state“. ....	130
Tabelle 60: Sinistrin <sup>®</sup> -Messung lt. Herstellerangaben vs. Modifikation.....	84

# 1 Einleitung

## 1.1 Entwicklungsgeschichte der extrakorporalen Organperfusion

Die extrakorporale, isolierte Organperfusion besitzt Modellcharakter. Grundlegende Aussagen über die Funktion von Organen - so beispielsweise der Niere - können mit diesem Modell beschrieben werden. Verschiedene Fragestellungen über kreislaufphysiologische (z.B. das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, Stahl et al. 2002), klinische (z.B. das akute Nierenversagen) oder methodische Aspekte (z.B. die Vergleichbarkeit von glomerulären Funktionsmarkern wie Inulin und Kreatinin) werden von Perfusionsmodellen beantwortet. An extrakorporal perfundierten Organen, wie Herz, Leber oder Niere von Groß- und Kleintieren, können organspezifische Wirkungen und Eigenschaften von vasoaktiven Hormonen wie Endothelin oder von Pharmaka wie Losartan untersucht werden.

In der Vergangenheit wurden überwiegend Perfusionsmodelle mit Organen von Kleintieren wie Ratte oder Kaninchen etabliert, deren Organe sich aber in ihrer Histoarchitektur und Funktion unterscheiden. Ergebnisse der isolierten Perfusion von Kleintierorganen sind daher nur bedingt auf die menschliche Physiologie übertragbar. Infolgedessen etablierte sich die isolierte Organperfusion von Großtieren wie dem Hausschwein, das dem Menschen in der Morphologie und Physiologie seiner Organe am ähnlichsten ist (vgl. Tabelle 1).

Ein frühzeitiges wissenschaftliches Interesse an der extrakorporalen Organperfusion zeigen bereits 150 Jahre zurückliegende Ergebnisse. 1849 beschrieb Karl Eduard Loebell in seiner Inaugural-Dissertation die isolierte Organperfusion. Untersucht wurde die Harnausscheidung der isolierten Schweineniere in Abhängigkeit von dem Blutfluss sowie dem Druck im Ureter. Dazu wurde defibriniertes Blut in die Nierenarterie eingeleitet. „Aus der Nierenvene floss dunkel gefärbtes Blut, angereichert um feste Bestandteile, während aus dem Ureter eine klare Flüssigkeit austrat“ (Loebell 1849). Ernst Bidder führte 1862 Loebells Perfusionsexperimente mit isolierten Nieren fort. Ein technisch einfacher, pumpenloser „Durchströmungsapparat“, konnte über eine Höhenverstellung der Quecksilbersäule Druck auf ein mit arteriellem Blut gefülltes Glasgefäß aufbauen und erlaubte einen variablen Perfusionsdruck in der Nierenarterie (Bidder 1862). C. Jacoby experimentierte 1890 mit einer pulsatilen Pumpe (Jacoby 1895), mit deren Hilfe Organe von geschlachteten Schweinen für die Dauer von 60-80 min bei einem arteriellen Druck ( $P_{art}$ ) von 120 - 160 mmHg und einem Perfusionsfluss (QB) von 193 ml/min perfundierte. Als Folge der sogenannten warmen Ischämie, der Zeitspanne zwischen Organentnahme und Perfusionsbeginn, und technischer Unvollkommenheiten im

Perfusionsaufbau, wie der mangelnden Oxygenierung des Blutes, versiegt jedoch die Harnbildung der Nieren nach kurzer Zeit. Ein Vorteil von Jacobj`s Perfusionapparatur war jedoch die geringere Ödembildung der Nieren. Im Jahr 1895 entwickelte Jacobj seine Perfusionstechnik entscheidend weiter. Erstmals wurde zur Oxygenierung mit Hirudin antikoaguliertes Blut in einem zweiten Kreislaufsystem durch eine isolierte Lunge gepumpt. Die neue Versuchsanordnung benötigte zur Organperfusion und -oxygenierung zwei Pumpsysteme. Basierend auf diesem Ansatz entwickelten Alexis Carrel und Charles A. Lindbergh 1934 ein Perfusionssystem "mit dem ein Organ in ständigem, pulsierendem Kreislauf mit einer sauerstoffangereicherten Nährflüssigkeit perfundiert werden konnte" (Carrel et al. 1935). Im Folgejahr wurde mit dieser Methode erstmals ein Organ in-vitro konserviert. Technisch stabile Perfusionsbedingungen und gute Nierenfunktionen konnten aber nicht erreicht werden, so dass Anfang der 70er Jahre Mikropunktionsperfusionsen von beispielsweise isolierten Nierentubuli oder deren afferenten Arteriolen durchgeführt wurden (Seely et Dirks et al. 1969, Thurau et al. 1971, Eisenbach et Steinhausen 1973, Peters et al. 1989, Loutzenhiser et al. 1990, Ito et al. 1991, Peters et al. 1998). Hierbei konnten hauptsächlich physiologische Einzelaspekte wie der tubuläre Natriumrücktransport untersucht werden (Diezi, Michoud et al. 1976). Maack et al. griffen 1980 erneut die Idee von der isolierten, zellfrei perfundierten Niere als sinnvolles physiologisches und klinisches Modell in der Grundlagenforschung auf. Rattennieren wurden mit einer zelldepletierten, serumähnlichen Lösung (Albumin, Glukose und Aminosäuren (L-Alanin)) in einer Konzentration von 7,5 g/100ml perfundiert. Bei einem Volumenstrom von 35 - 45 ml/min und einem arteriellen Druck von 85 - 95 mmHG konnten jedoch nur sehr niedrige Werte der glomerulären Filtrationsrate (GFR) von 0,5 - 0,7 ml/min, des Urinvolumens (UV) von 0,02 - 0,03 ml/min und der Filtrationsfraktion (FF) von 0,015 - 0,033 % erreicht werden.

Die Technik der heutigen Perfusionssysteme basiert auf diesen über viele Jahre entwickelten und verbesserten Ansätzen. Gegenwärtig werden mechanische, einfach zu bedienende Rollerpumpen oder pneumatisch betriebene, pulsatile Pumpsysteme zur Organperfusion verwendet. Neben neuen Pumpsystemen war eine Vielzahl weiterer Entwicklungsschritte notwendig. Beispielsweise wurden Kunststoffschlauchsysteme mit Hirudin, Urokinase oder Heparin beschichtet, die die thrombogene Interaktion von Blutbestandteilen und Kunststoffen verringerten (Phaneuf et al. 1997). Trotzdem blieb das Problem der Hämokompatibilität, d.h. der Verträglichkeit von Perfusionsblut und Kunststoffschlauchsystemen ungelöst, so dass häufig toxische, immunologische und hämolytische Reaktionen auftreten (Colmann et al. 1987, Ito et al. 1990).

Ohne die bisher erreichten Entwicklungen sind chirurgische Eingriffe am kreislaufisolierten Herzen oder die isolierte, extrakorporale unter stabilen Perfusionsbedingungen („steady-state“) durchgeführte Organperfusion nicht möglich. Neben einer guten Hämokompatibilität der eingesetzten Materialien sind für die „steady-state“ Organperfusion drei Variablen besonders wichtig:

1. Organkonservierung
2. Perfusionslösung und
3. Perfusionspumpen,

die in den nachfolgenden Kapiteln erläutert werden.

## **1.2 Organkonservierung**

Der Organkonservierung kommt eine entscheidende Bedeutung zu. Die Organfunktion muss nach Explantation über mehrere Stunden bis zum Anschluss an die Perfusionsapparatur durch Konservierungsmaßnahmen erhalten bleiben, andernfalls entstehen, bedingt durch schlachtungsbedingter warmer und konservierungsbedingter kalter Ischämie, Parenchymschäden an Leber, Nieren oder Herzmuskel. Verschiedene Ansätze der Organkonservierung wurden verfolgt (Keeler et al. 1966, Belzer et al. 1967, Collins et al. 1969, Bretschneider et al. 1988). Eine Möglichkeit sind Konservierungslösungen oder Kryokonservierung. Die Organvitalität kann durch Erniedrigung der Temperatur der Konservierungslösung und/oder der Perfusionstemperatur von 20 °C auf 4 °C, der sogenannten hypothermen Konservierung erhalten werden. Diese Kältekonservierung reduziert Ischämieschäden indem der zelluläre Sauerstoffverbrauch erniedrigt wird (Stubenitsky et al. 1995, Hansen et al. 1997). Eine höhere Ischämietoleranz des hypotherm konservierten Organs ist die Folge. Zur Organprotektion müssen allerdings den hypothermen Konservierungslösungen gefrierpunktsenkende Substanzen wie beispielsweise Glykol beigemischt werden, um eine Auskristallisation zellulären Wassers und damit konsekutive Parenchymschäden zu vermeiden. Zusätzliche Konservierungseffekte können durch die Beimischung verschiedener Substrate in Konservierungs- und Perfusionslösungen erzielt werden. Die Bedeutung der Zusammensetzung der Konservierungslösung und die immer wieder veränderten Rezepturen zeigen sich am Beispiel einer systematischen Literaturrecherche (de Haan et al. 2001). Eingeschlossen wurden experimentelle Studien zur pharmakologischen Organprotektion bei temporärer Ischämie, die im Zeitraum bis 1999 veröffentlicht wurden. Insgesamt wurden 79 Einzelsubstanzen und 18 Kombinationen in 103 Studien evaluiert. Untersucht wurde die organprotektive Wirksamkeit von Agenzien

unterschiedlicher Substanzklassen wie Aminosäurenrezeptorblocker, Radikalfänger, Calciumkanalblocker, Opiatrezeptor-Antagonisten, Leukozyten/Monozyten-Inhibitoren, Corticosteroide, Prostaglandine, alternative Sauerstoffträger, Adenosin-Agonisten, Koagulationsmodulatoren, Serotoninantagonisten, Natriumkanalinhibitoren, pH-Modulatoren, regenerative Agenzien, Vasodilatoren, Nitrooxidsynthaseinhibitoren, Plasmaexpander und Apoptoseinhibitoren (Bredtschneider et al.1988, Belzer et al. 1990, Hölscher et Groenewoud 1991, Collins et al. 1976, 1992 und 1997, Herrero et al. 1995, Southard et al., Belzer et al. 1995, Haab et al. 1996). Für 65 Einzelsubstanzen konnte die zelluläre protektive Potenz in mindestens einer Studie nachgewiesen werden. Für 15 Einzelsubstanzen konnte der Nachweis durch mindestens zwei Studien erbracht werden. Vierzehn von 79 Einzelsubstanzen zeigten keinen zellulär protektiven Effekt. Allerdings sind die meisten Studienergebnisse durch unterschiedliche Versuchsbedingungen wie z.B. die Temperatur nur eingeschränkt vergleichbar. Viele Experimente ließen beispielsweise die sogenannte Restitutionspotenz unberücksichtigt, d. h. die postischämische Zeit in der zelluläre Reparaturmechanismen Organschäden mindern können. Zusammenfassend kommen die Autoren anhand der Literaturrecherche zu dem Ergebnis, dass für keine einzelne Substanz der Einsatz zur Organkonservierung innerhalb randomisierter klinischer Studien gerechtfertigt ist (de Haan et al. 2001). Trotz dieser Vielzahl von in der Literatur beschriebenen Ansätzen, etablierte sich die 1988 zur Kältekonservierung von Organen eingeführte Belzer-University-of-Wisconsin-Lösung als gängigste Konservierungs-Lösung (Belzer et al. 1988). Zwei weitere, häufig eingesetzte Konservierungslösungen sind die Eurocollins-Lösung (Collins et al. 1976), die eine kalte Ischämie von 6-8 Stunden Dauer erlaubte oder die Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung (HTK) nach Bretschneider (1991). Die HTK-Lösung hat einen niedrigen Elektrolytgehalt, somit wird eine hohe Konzentration des Histidin/Histidin-HCl-Puffers bei Isoosmolalität erreicht. Tryptophan inhibiert den Einstrom von Histidin in die Nierenzelle. Ketoglutarat kann von dem konservierten Organ aerob metabolisiert werden.

Dank der vielfach modifizierten Konservierungslösungen kann die Vitalität von Organen bis zu 2 Tagen erhalten werden (Unterschiedliche Angaben: Nieren bis 1,5 - 2 Tage, Leber 20 - 24 Std., Herz 6 - 8 Std.). Besonders für die Transplantationsmedizin bedeutet dieser Zeitgewinn einen erheblichen Vorteil, so dass ein durchschnittliches Organüberleben von mehr als 7 Jahren bei Leichennierentransplantationen erreicht werden konnte. Bei Lebendnierenspenden wird diese Zeitspanne sogar noch deutlich übertroffen (De Meester et al. 1998).

Wird zur Organkonservierung die o.g. Eurocollins-Lösung eingesetzt, ergeben sich Vor- und Nachteile. Nachteilig wirkt sich der hohe Glukose- und Kalium-Anteil aus. Ein unerwünschter

Effekt ist eine Erhöhung des anaeroben Energieumsatzes. Dieser führte zur Entwicklung von intrazellulärer Azidose, Zellschwellung und Strukturschädigung wird forciert (Bretschneider et al. 1992). Auch können infolge der hohen Kalium-Konzentration Störungen der endothelzellvermittelten koronaren Vasodilatation an isoliert perfundierten Herzen auftreten. Von Vorteil sind die langen Ischämiezeiten. In Experimenten mit Eurocollins-Lösung wurden Ischämiezeiten von über 12 Stunden von den konservierten Organen toleriert (Kallerhoff et al. 1986). Der Effekt der tolerierten Ischämiezeit wird durch die Elektrolytzusammensetzung der Eurocollins-Lösung erklärt. Eine Reduktion energieverbrauchender, transmembranöser Transportprozesse soll die durch Eiskühlung bedingte Zellschwellung mindern.

Ein gänzlich anderer Ansatz der Organkonservierung ist die aufwendigere und kostenintensivere, extrakorporale Organkonservierung mit 3 - 7 °C kaltem Perfusat bei der beispielsweise Flussraten und vasale Drücke der Niere oder Leber gemessen werden können. Ein Vorteil dieses methodischen Ansatzes ist die Bewertung der Organvitalität unmittelbar vor Perfusion oder Transplantation.

Ein relativ neuer experimenteller Ansatz ist der Zusatz von Winterschlaf-Faktoren zur Organkonservierung (engl. Hibernation Induction Trigger; Chien et al. 1991, Oeltgen et al. 1996, Bolling et al. 1998). Mit diesen enkephalinähnlichen Substanzen konnte die Organkonservierung und -perfusion durch einen zellulär verminderten Sauerstoffverbrauch und nochmals verbesserter Ischämietoleranz verlängert werden. Erfolgreich konnten en-bloc Perfusionen von Lunge, Herz, Pankreas, Duodenum und Nieren über 48 Stunden mit anschließender autologer Transplantation und konsekutiv guter Organfunktion durchgeführt werden (Belzer et al. 1967).

### **1.3 Perfusionslösung**

Die Perfusionslösung spielt für die Erhaltung der Organfunktion im Verlauf einer Perfusion eine ebenso bedeutende Rolle wie die Konservierungslösung.

Perfusionslösungen müssen zum einen die Sauerstoff- und Substratversorgung des Organs gewährleisten und zum anderen auch Schutz vor ischämisch liberierten Radikalen wie Superoxid Dismutase, Glutathion Peroxidase bieten (Lindell et al. 2005). Freie Radikale sind in der Lage die Lipidmembran der Zellen zu destruieren, erhöhen dadurch die Membranpermeabilität und den intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Spiegel. Es folgt eine Leukozytenadhäsion durch die Aktivierung von Adhäsionsmolekülen .

Die Inhaltsstoffe der Perfusionslösung sollen den physiologischen Verhältnissen beispielsweise der Niere oder dem Herzen angepasst sein und primär die Vitalität des isoliert perfundierten

Organs aufrechterhalten. Isolierte Organe können mit autologem bzw. heterologem Blut oder mit zellfreien Lösungen perfundiert werden. In den 70er und 80er Jahren wurden isolierte Nieren von Ratten überwiegend mit zellfreiem, Leukozyten- und Thrombozyten depletiertem, jedoch hämoglobinhaltigem Plasma perfundiert (Ross et al. 1978, Maack et al. 1980, Schurek et al. 1981, Cohen et al. 1989, Vogel et al. 1988, Takenaka et al. 1993). Der Ansatz zellfreien Perfusats, wie isotoner Kochsalzlösung oder Ringerlösung, löste das Problem begrenzt zur Verfügung stehender Blutvolumina der Versuchstiere und ermöglichte stabile Elektrolytkonzentrationen bzw. pH-Werte. Die niedrige Viskosität des Perfusats erlaubte niedrige Perfusionsdrücke. Die minimale Sauerstofftransportkapazität des zellfreien Perfusats kann aber auch zu einer Gewebshypoxie führen. Schwer zu vermeiden sind dagegen ischämisch bedingte Kapillaralterationen des Glomerulums. Eine konsekutive, nicht selektive Proteinurie mit einem Absinken des intravasalen onkotischen Drucks ist eine funktionelle Konsequenz. Um den intravasalen Druck zu erhöhen und die Abhängigkeit der GFR von onkotisch wirksamen Proteinen wie Albumin zu untersuchen, wurden zellfreie Perfusatlösungen beispielsweise mit Albumin in einer Konzentration von 0-8 g/100 ml angereichert (Schurek et al. 1981, Little und Cohen 1974, Epstein et al. 1982, Moore et al. 1992). Perfluorkarbonat (FC-43) wurde als Träger für Sauerstoff eingesetzt. Zusätzlich wurden verschiedene Aminosäuren wie Methionin, Alanin, Serin und Glycin, aber auch ein antidiuretisches Hormon beigemischt. Aufgrund der beschriebenen Nachteile von zellfreien Perfusionslösungen wird am häufigsten autologes oder heterologes Blut verwendet, das der physiologischen Situation am nächsten kommt.

#### **1.4 Pumpsysteme**

Mechanische oder pneumatische Pumpsysteme ermöglichen einen annähernd physiologischen Blutfluss. Bei den Pumpsystemen werden für zur Aufrechterhaltung des Volumenstroms (QB) nicht-pulsatil (Ploeg et al. 1988, Breimer et al. 1996) und pulsatil arbeitende Systeme (Hooker et al. 1910, Danielewicz et al. 1997, Henry et al. 1997) verwendet. Vor- und Nachteile dieser Pumpsysteme werden seit Jahren kontrovers diskutiert (Olsen et al. 2000). Im Rahmen dieser Arbeit wurden einfach zu bedienende, nicht-pulsatile Rollerpumpen verwendet, die wahlweise eine Niedrig- oder Hochdruckperfusion mit exakt einstellbaren Blut- und Dialysatvolumenstrom in einem Bereich zwischen 20 - 500 ml/min erlauben. Die so druckkontrollierte Erhöhung des QB führt zu einer Widerstandssenkung, der in der Anfangsphase der „steady-state“ Perfusion vasokonstriktorisches Niere. Druckbedingte Parenchymschäden können so vermieden werden. Ein anfänglich zu hoher Perfusionsdrucks

würde zu einer Schädigung des Nierenendothels, ein zu niedriger Perfusionsdruck zu einer Gewebhypoxie führen. Perfusionsdruck und Flussrate sind daher bei der Entwicklung eines „steady-state“ Perfusionsmodells wichtige Stellgrößen. Unterschieden wird zwischen einer druckkonstanten und flusskonstanten Perfusion. Im Falle einer renalen Vasokonstriktion resultiert beispielsweise bei einer druckkonstanten Perfusion ein geringerer Blutfluss. Besteht dem gegenüber bei einer volumenkontrollierten Perfusion eine renale Vasokonstriktion, muss der erforderliche Perfusionsdruck erhöht werden.

Insgesamt zeigt sich die Bedeutung der Perfusionspumpen auf der Ebene der Mikrozirkulation. Hier kann es zu Störungen kommen, die mit einer Durchblutungsverminderungen in der Endstrombahn des perfundierten Organs einhergehen. So ist jede Makrozirkulationsstörung, ausgelöst durch Kreislaufstillstand oder durch Hypovolämie, in unserem Perfusionsmodell unmittelbar nach dem Schlachtvorgang, zwingend mit einer Mikrozirkulationsstörung verbunden. Die Kompensation einer Makrozirkulationsstörung über eine druckkonstante Perfusion führt daher nicht zwangsläufig zu einer normalisierten Mikrozirkulation, insbesondere bei Manifestation eines ausgeprägten Schockzustandes des Organs. Die rasche Normalisierung der Gewebe- und Organperfusion erfordert, neben der Auswahl geeigneter Volumenersatzkonzepte, wie sie in der Anästhesie mittels der Hämodilution üblich sind, eine Erhöhung des Perfusionsdruckes durch die verwendeten Pumpsysteme (Jung et al. 1988).

Jede Nettozufuhr von Volumen, d.h. Erhöhung des QB ohne parallele Blutverluste oder -entnahmen, führt zu einer Erhöhung des Perfusionsdruckes in der Endstrombahn und konsekutiv zu einer Verbesserung der Sauerstoffversorgung des perfundierten Organs.

Wird hingegen das Perfusat zu langsam durch ein Gefäß transportiert, kann die Durchflussgeschwindigkeit basierend auf dem Hagen-Poiseuilleschen Gesetz, das die Verhältnisse in „starr“en Röhren beschreibt, erhöht werden. Auch auf Blutgefäße (z.B. Arteriolen, Venolen und Kapillaren) in einem isolierten Organperfuionsmodell ist das Gesetz anwendbar. Eine Verbesserung der Organperfusion kann mittels

1. Vergrößerung Gefäßradius (z.B. durch Vasodilantien),
2. Erhöhung des Perfusionsdruckes und/oder
3. Verringerung der Blutviskosität erreicht werden.

Ein anderes, wichtiges Problem ist die Biokompatibilität der eingesetzten Materialien im Perfusionssystem. Biokompatibilität beschreibt die Interaktion zwischen autologem Vollblut als Perfuionsmedium und den verschiedenen Materialien des Perfuionsystems wie Schlauchsystemen aus Silikon oder Kunststoff, Oberflächen aus Glas oder Metall. Hämoinkompatibilität würde bei Kontakt mit den artifiziellen Oberflächen des Systems eine

Koagulation des Blutes, materialbedingte Toxizität und Hämolyse durch Scherkräfte induzieren. Ein weiteres Problem ist das fehlende Endothel auf den Oberflächen. Das Endothel hat, neben der Auskleidung des Gefäßsystems, einen funktionellen Charakter, beispielsweise bei der Mitregulation der Vasomotorik durch Freisetzung von Stickstoffmonoxid mittels pulsativer Scherkräfte. Im extrakorporalen Kreislauf läuft das autologe Blut lediglich in den aus- und eintretenden Nierengefäßen sowie im intrarenalen Gefäßbett durch endothelialisierte Oberflächen, so dass eine Aktivierung von Teilen des Immunsystems des Komplementsystems nicht vermeidbar ist. Zusätzlich werden verschiedene Systeme wie das Gerinnungs-, das Fibrinolyse- und das Kallikrein-Kininsystem durch Kontakt mit artifiziellen Oberflächen aktiviert (Downing et al. 1992, Hattler et al. 1995). Neben polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten werden auch verschiedene Zytokine und Leukozytenadhäsionsmoleküle aktiviert und exprimiert (Finkel et al. 1993, Edmunds et al. 1995). Das o.g. Komplementsystem kann ohne Beteiligung von Antikörpern körperfremde Stoffe inaktivieren. Ausgelöst werden kann die Komplementkaskade durch beispielsweise bakterielle Lipopolysaccharide und/oder artifiziellen Membranen wie sie in Perfusionssystemen oder Herz-Lungen-Maschinen vorkommen. Die Folge an isoliert perfundierten Nieren ist z.B. eine durch aktiviertes Komplement ausgelöste renale Vasokonstriktion (Abouna et al. 1974).

## **1.5 Nierenphysiologie**

Um die Filtrations-, Rückresorptions-, Sekretions- und Syntheseleistungen zu bewältigen, ist für die Nierendurchblutung ein hoher Anteil vom Herz-Minuten-Volumen (HMV) erforderlich. Die Nieren erhalten 20 % des Ruhe-HMV zur Aufrechterhaltung der Ultrafiltration. Das Ultrafiltrat ist nahezu eiweißfrei, enthält aber ungefähr die gleiche Konzentration an kleinen Molekülen (z.B. Glukose) und Elektrolyten wie das Blutplasma. Die hohe Durchblutung mit 400 ml/ 100 g Nierengewicht bzw. von 1 l/ min (Mensch) führt zu einer kontinuierlichen Ultrafiltration. Dabei ist die letztlich gebildete Urinmenge von durchschnittlich 1 ml/min gering.

Für die Na-Reabsorptionsleistung im proximalen Tubulus der Niere werden ca. 8-10 % des basalen Sauerstoffverbrauchs beansprucht, obwohl das Organ weniger als 1 % der Körpermasse ausmacht (Deetjen et al. 1961). Im Gegensatz zu der Niere, die 6,8 ml O<sub>2</sub> /min/ 100 g Nierengewicht (NG) verbraucht, benötigt das Gehirn nur 3,7 ml O<sub>2</sub>/min/ 100 g Organgewicht.

Die Durchblutung der Niere unterliegt einem Autoregulationsmechanismus zur Sicherung des renokortikalen Blutflusses und konsekutiv der GFR. Der Plexus renalis, ein die Niere

versorgendes Nervengeflecht, die Hormone des Renin-Angiotensin-Systems (RAS) und die Histoarchitektur der Glomerula steuert diesen Mechanismus. Schwankungen der Durchblutung werden mittels in den Vasa afferentia lokalisierter myogener Rezeptoren durch Vasokonstriktion (Schutz vor Hypotension) oder Vasodilatation (Schutz vor Hypertension) ausgeglichen. Der Autoregulationsmechanismus ermöglicht Blutdruckschwankungen im Bereich zwischen 80 - 120 mmHg ausgeglichen (Ochwadt et al. 1961). Neuere Ergebnisse beschreiben die Regulation des renalen Blutflusses auf der Ebene der Arteriae arcuatae und interlobulares (Persson et al. 1997).

Dank der hohen morphologischen und funktionellen Übereinstimmung von porcinen und humanen Nieren sowie verbesserten Konservierungs- und Perfusionslösungen konnte mit unserem Perfusionsmodell die isolierte, extrakorporale Perfusion von kältekonservierten Organen geschlachteter Schweine möglich werden (vgl. Tabelle 1). Auf eine Tötung von Schweinen ausschließlich zu Versuchszwecken kann weitgehend verzichtet werden.

Nephrologische Parameter	Mensch	Schwein
Nierendurchblutung <sup>c</sup>	17 ml/min/kg	24 ml/min/kg
Glomeruläre Filtrationsrate <sup>c</sup>	1,8 ml/min/kg	2,4 ml/min/kg
Urinzeitvolumen <sup>c</sup>	14,3 µl/min/kg	50 µl/min/k
pH <sup>b</sup>	Sauer	Alkalisch
Maximale Konzentrationsfähigkeit <sup>a</sup>	1160 mOsm/l	1080 mOsm/l
Primärharn <sup>b</sup>	180 l/24 Std.	140 l/24 Std.
Harnsäure <sup>d</sup>	20,8-116,0 µmol/l	505,6 µmol/l
Serumkreatinin <sup>b</sup>	1,2-1,4 mg/dl	1,1-1,3 mg/dl

**Tabelle 1:** Vergleich ausgewählter nephrologische Daten von Mensch und Schwein  
(Douglas 1972 <sup>a</sup>, Rick et al. 1977 <sup>b</sup>, Kolb et al 1989 <sup>d</sup>, Hannon et al. 1990 <sup>c</sup>)

### 1.6 Nierenfunktionsdiagnostik: Inulin- und Kreatinin-Clearance als Maß für die GFR

Die Größe der GFR ist eine Funktion des effektiven Filtrationsdruckes. Der effektive Filtrationsdruck resultiert aus:

1. Blutdruck in den Vasa afferentia,
2. Hydrostatischer Druck in der Bowmanschen Kapsel und
3. Kolloidosmotischer Druck des Blutes.

Um die GFR zu bestimmen sind Marker wie Kreatinin und Inulin notwendig, die von der Niere idealerweise gänzlich ausgeschieden werden. Das Plasmavolumen, das von Kreatinin pro Zeiteinheit "geklärt" wird (Clearance = Plasmavolumen, das komplett von einer Substanz X pro Zeiteinheit befreit wird), ist die Kreatininclearance. Es wird angenommen, dass sie der GFR entspricht. Bei Substanzen, die teilweise resorbiert werden, ist die renale Clearance kleiner als die GFR. Bei Substanzen die sezerniert werden, ist die Clearance größer als die GFR. Die Clearance einer Substanz, die nach der Filtration weder resorbiert noch sezerniert wird, ist, wie bereits erwähnt, eine Schätzung der GFR. Das Verhältnis der Clearance einer Substanz zur GFR wird fraktionelle Ausscheidung genannt. Die fraktionelle Ausscheidung von Kreatinin beträgt somit eins (Schmidt et al. 1997). Das Verhältnis lässt eine Aussage über die tatsächliche Ausscheidungsmenge, die resorbierten und sezernierten Anteile einer Substanz zu.

Eine vom Normalwert abweichende Clearance ist Indiz für eine Funktionsstörung der Niere. Die zur Berechnung notwendige Ausgangsformel ergibt sich wie folgt: Clearance Substanz X ( $C_x$ ) entspricht Urinkonzentration von Substanz x ( $U_x$ ) multipliziert mit dem Harnzeitvolumen ( $V$ ) dividiert durch die Plasmakonzentration von x:

$$C_x = (U_x) * (V) / P_x.$$

Kreatinin ist eine körpereigene Substanz, die als Anhydrid in der Muskulatur gespeichert wird und den idealen Anforderungen an einen GFR-Marker sehr nahe kommt. Ein großer Vorteil des Kreatinins ist, dass es im Plasma als Endprodukt des Muskelstoffwechsels einen relativ konstanten Spiegel hat. Ein niedriger Plasmaspiegel von Kreatinin weist auf eine hohe GFR, ein hoher Plasmaspiegel auf eine niedrige GFR hin. Ein großer Nachteil sind die verschiedenen Störgrößen, die den Plasmaspiegel des Kreatinins beeinflussen können. Deshalb gilt Kreatinin nicht als idealer Clearance-Marker. Mögliche Störgrößen sind:

1. Muskuläre Syntheserate, abhängig von Muskelmasse, Körpergewicht, und Alter
2. Erhöhung des Plasmakreatinin durch Fleischzufuhr, Muskeltraumata, Muskeldystrophie oder Muskelentzündungen
3. Kataboler Stoffwechsel (z.B. Corticosteroidtherapie) oder schwere vorhergehende körperliche Arbeit.
4. Im Plasma interferierende Substanzen wie Ketonkörper, erhöhte Harnsäurekonzentration, Vitamin C, Antibiotika u.a. können bei Einsatz der Jaffé-Methode zur photometrischen Messung des Kreatinins zu hohe Werte im Plasma vortäuschen.

Trotz der Nachteile ist die Serum-Kreatinin-Analyse ein gut validiertes Verfahren. Sie ist relativ preiswert und findet in der täglichen klinischen Routinediagnostik Anwendung sowohl als einfache Serummarkerbestimmung, als auch zur Berechnung der Clearance. Kreatinin (Molekulargewicht 113 Dalton) wird glomerulär von der Niere filtriert und nicht rückresorbiert. Geringe Mengen werden tubulär sezerniert und rückresorbiert, was aber mengenmäßig keine Bedeutung für die Messung hat.

Als eigentlicher Goldstandard zur GFR-Bestimmung gilt das Inulin, welches laborchemisch allerdings erheblich aufwendiger zu bestimmen ist. Inulin (Molekulargewicht 3500 Dalton) gehört zu der Substanzklasse der Fructane (wasserlösliche Polysaccharide). Der Inhaltsstoff des Sinistrins<sup>®</sup> (Inulin like, Fa. Fresenius, Linz, Österreich) kommt als Reservekohlenhydrat in Pflanzen wie Lichorium, Dahlia und Inula vor (Wingenfeld et al. 1996). Nur 0,3 - 0,4 % der i.v. verabreichten Menge von Inulin werden wahrscheinlich durch Endozytose, dosisunabhängig und nicht sättigbar, im lysosomalen System der proximalen Tubuli gespeichert. Im Vergleich

zu anderen makromolekularen Substanzen ist das eine zu vernachlässigende Menge (Weinberg et al. 1997). Inulin erfüllt im Gegensatz zu Kreatinin uneingeschränkt alle Voraussetzungen, die an einen idealen GFR-Marker gestellt werden, da es ausschließlich glomerulär filtriert wird.

## 1.7 Akutes Nierenversagen

Trotz intensiver Forschungen sind die pathophysiologischen Zusammenhänge des akuten Nierenversagen (ANV) noch nicht umfassend verstanden. Eine Vielzahl von Ursachen wie vaskuläre Effekte durch Hypotonie und Hypovolämie, eine Störung der glomerulären Filtrationsbarriere oder die tubuläre Obstruktion mit Rückresorption (sog. „back-leak“) von abgefiltertem Primärharn in das Interstitium durch den geschädigten Tubulusepithelverband werden diskutiert. Auch ausgeprägte z.B. ischämisch bedingte Tubulusnekrosen mit Anhäufungen von Zelldetritus in den Tubuluslumen mit einhergehendem Verschluss führen zum ANV (Bartels et al.1997). Das ANV bewirkt eine häufig reversible Abnahme der GFR. Störungen des Säure-Basen-/Elektrolyt- und Wasserhaushaltes treten auf, die letztlich zu einer Akkumulation von ausscheidungspflichtigen Stoffwechselprodukten im Organ- und Kreislaufsystem führen.

Unterschieden wird zwischen prärenalen, renalem und postrenalem ANV, das durch verschiedene Parameter angezeigt werden kann:

1. Kreatinin-Clearance  $< 18 \text{ ml/min/m}^2$  Körperoberfläche
2. Serum-Harnstoff-Anstieg  $> 8,5 \text{ mmol/l}$  ( $>50 \text{ mg/dl}$ )
3. Serum-Osmolalität  $> 310 \text{ mOsmol/kg}$
4. Oligo-/Anurie: stdl. Urinproduktion  $< 0,5 \text{ ml/kg}$  Körpergewicht
5. Serum-Kreatinin-Anstieg  $> 0,5 - 2 \text{ mg/dl}$  (unsicherer Parameter)

Von den o.g. Parametern ist Kreatinin der unsicherste, weil eine normale Kreatininkonzentration im Serum eine reduzierte Nierenfunktion nicht ausschließt. Erst bei einer Einschränkung der glomerulären Filtrationsleistung auf  $> 50 \%$  ist ein Anstieg der Serumkreatininkonzentration zu erwarten. Damit wird eine klinisch relevantes, beginnendes ANV nicht frühzeitig genug erkannt werden kann. Die effektivste ANV Therapie besteht daher in der frühzeitigen Diagnostik des ANV mit einhergehender Stabilisierung der Hämodynamik und der Beseitigung nephrotoxischer Substanzen (z.B. ischämisch liberierter „freier Radikale“). Trotz verbesserter Behandlungsstrategien führt das intensivpflichtige ANV noch immer zu hohen Mortalitätsraten (Mortalität = Inzidenz \* Letalität) von bis zu  $50 \%$  (Brady et al. 1995, Gobé et al.1999). Die in der Literatur angegebene Inzidenz als Grundlage zur Berechnung der

Mortalitätsrate für ein ANV liegt mit Werten zwischen 4 - 25 % sehr weit auseinander (Bartels et al. 1997, Schwilk et al. 1997, Haller et al. 2000). Erklärbar ist dies durch unterschiedliche Einschlusskriterien bei verschiedenen Definitionen des ANV sowie durch ein stark variierendes Patientengut. Die Letalität (Letalität = Zahl der Verstorbenen/Zahl der Erkrankten) für das akute Nierenversagen wird heute mit Werten zwischen 50 und 80 % angegeben (Cameron et al. 1990, Kierdorf et al.1994).

## 1.8 Ziel der Untersuchungen

Die vorliegende Arbeit charakterisiert ein neuartiges Perfusionsmodell mit dem porcine Schlachthausnieren in einer von den Perfusionsbedingungen stabilen (pH-, pO<sub>2</sub>-, pCO<sub>2</sub>-, Hämatokrit, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> und Mg<sup>+</sup> im Plasma konstant), sogenannten „steady-state“ Phase mit autologem Blut, extrakorporal und normotherm perfundiert werden können. Verschiedene Nierenfunktionsparameter wie die Kreatinin- und erstmalig bei Schlachthausnieren die Sinistrin<sup>®</sup>- (Inulin like) Clearance als glomeruläre und die N-Acetylgalaktosaminidase (β-NAG) als tubuläre Funktionsparameter wurden bestimmt.

Zusätzlich berechnet wurden die Diurese, der vaskuläre Widerstand, der Sauerstoffverbrauch und die tubuläre Natrium-Rückresorption der Schlachthausniere, die den Verlauf und die komplexen, heterogenen Ursachen des beobachteten poly- und hypostenurischen akuten Nierenversagens (ANV) abbilden. Die Wahl der Schweineniere für physio-, pathophysiologische und pharmakologische Untersuchungen resultiert aus ihrer anatomischen Ähnlichkeit zur menschlichen Niere (Sondeen et al. 1990, vgl. Tab. 1). Daher gibt es eine Vielzahl von Publikationen, die pharmakologische, immunologische oder klinische Fragestellungen, die am Modell perfundierter Schweinenieren beantwortet werden. Ein Schwerpunkt dieser Arbeit lag in der erstmaligen methodischen Validierung der glomerulären Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance bei isoliert perfundierten Schlachthausnieren im ANV verglichen mit einer in-vivo Kontrollgruppe von anästhetisierten Schweinen.

Folgende Fragen sollten dabei beantwortet werden:

1. Welchen Einfluss nimmt das ANV auf die vollenzymatische Inuquant-Messmethode zum Nachweis von Sinistrin (Inulin like) im Plasma und Urin der isoliert perfundierten Schlachthausniere?
2. Stimmen Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance überein, so dass in Zukunft die Kreatinin-Clearance allein als Schätzung der GFR verwendet werden kann?
3. Geht die reduzierte Natriumrückresorption isoliert perfundierter Nieren mit einem entsprechenden Anstieg des tubulären Markers N-Acetyl-β-D-glucosaminidase einher?
4. Gibt es Parameter, die die Qualität der perfundierten Niere charakterisieren?
5. Welchen Verlauf nehmen die Nierenfunktionsparameter von der “steady-state Phase“ bis zum ANV ?
6. Nimmt die unterschiedliche Gewichtszunahme der Nieren vor und nach der „steady-state“ Perfusion Einfluss auf die Nierenfunktionsparameter?

## **2 Material und Methoden**

### **2.1. Herkunft der Tiere und Datenbasis**

Bei den Tieren handelte es sich um 80 - 120 kg schwere Schweine der Deutschen Landrasse. Die entnommenen Nieren (n = 55) wurden von der Eberswalder Fleischwarenfabrik GmbH & Co. KG, Britz, Deutschland erworben.

Die Daten der vorliegenden Arbeit basieren auf 17 von insgesamt 55 perfundierten Schweinenieren.

### **2.2 Vorbereitung zur Organentnahme**

Die Tiere wurden mittels Elektroschock zur kurzzeitigen Ausschaltung des nozizeptiven Systems von A-, B-, C-Fasern betäubt. Vor dem Tötungsstich in die Arteriae carotides communes erfolgte die Aufhängung der Tiere an der am Os calcaneus inserierenden Sehne der Hinterläufe. Das Blut wurde in einem Gefäß gesammelt und zur Konservierung mit Antikoagulantien (50 ml einer 20 % -igen Natriumcitrat Lösung<sup>1</sup>, 2 ml Liquemin-N<sup>®</sup> = 10.000 E/I Heparin<sup>2</sup> und zur Verminderung eines im Laufe der Perfusion zunehmenden intrazellulären Ca<sup>2+</sup> Freisetzung mit 5 mg Verapamil-Hydrochlorid (Isoptin<sup>®</sup>, Fa. Knoll) pro 500 ml Blut versetzt. Aufbewahrung und Transport des autologen Blutes erfolgte in handelsüblichen 500 ml großen Kunststoffflaschen. Eine Probe Nativblut wurde zur späteren Bestimmung von Blutgaswerten und Plasma-Elektrolyten vor Ort abgenommen und in einem heparinisierten Röhrchen aufbewahrt. Im Anschluss an die Tötung wurde der Schweinekörper für 1 bis 2 min zur Entborstung abgebrüht.

### **2.3 Entnahme der Nieren**

Zur Vorbereitung der Nierenentnahme wurde das Abdomen der Länge nach mit einem Schnitt an der Linea alba geöffnet. Das Bauchsitus-Konvolut wurde entnommen, die intra- und retroperitoneal gelegenen Organe wurden frei präpariert und ebenfalls entfernt. Die Aorta abdominalis sowie die Vena cava inferior wurden stumpf mobilisiert und dargestellt, so dass eine Abtrennung der Nierengefäße kaudal vom Hauptgefäßstamm möglich wurde. Das retroperitoneal liegende Nierenpaar wurde unter Schonung der Nierenkapsel freipräpariert und mit einem Teil der Aorta abdominalis, der Vena cava inferior, der Ureteren bis zum distalen

---

<sup>1</sup> (Eigene Herstellung, Apotheke der Charitè, Campus Virchow)

<sup>2</sup> ( Hoffmann-La Roche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland)

Drittel als en-bloc-Paket entnommen. Alle Präparationsarbeiten erfolgten unter Verwendung steriler Instrumentarien in OP üblicher Kleidung.

## **2.4 Nierenkonservierung**

Die warme Ischämiezeit umfasste den Tötungszeitpunkt der Schweine bis zur Organentnahme. Die kalte Ischämiezeit begann am Ende der warmen Ischämiezeit nach Infusion der Konservierungslösung.

Um die warme Ischämie so kurz wie möglich zu halten (mittlere Dauer  $19 \pm 2$  min), wurde das Organ nach Entnahme mittels Eis gekühlt und zur Vermeidung von Frostschäden halboffen in ein Tuch gehüllt. Für die Vorbereitung der Trennung des Organpakets wurde die Aorta abdominalis und die Vena cava inferior längst gespalten und dadurch die Abgänge der Arteria und Vena renalis dextra et sinistra sichtbar. Nach Abpräparation der Nieren vom Hauptgefäßstumpf konnte das Nativgewicht (Mittel  $189 \pm 39$  g) der Nieren bestimmt werden. Die Kanülierung der Arteria renalis erfolgte mit einem mit 0,9 % NaCl- Lösung vorgefüllten Katheter. Die Niere wurde blutleer gespült und dadurch von etwaigen Blutkoagel befreit. Im nächsten Arbeitsschritt erfolgte die Perfusion der Nieren mit einer  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  kalten polyethylenglykolhaltigen Konservierungslösung (PEG 4000)<sup>3</sup> nach einer Rezeptur v. Baeyer aus einer Höhe von 170 cm, um einen mittleren Infusionsdruck von 120 mmHg zu erreichen (v. Baeyer et al. 1997). Zur Vasodilation und besseren Spülung der Nierengefäße enthielt die Konservierungslösung zusätzlich 5 mg Verapamil-hydrochlorid/l (Isoptin®). Die so vorbehandelten Nieren wurden in einer Kühlbox in das Perfusionslabor transportiert (mittlere Dauer  $5,0 \pm 0,5$  Stunden\kalte Ischämiezeit).

---

<sup>3</sup> (Zusammensetzung vgl. Tabelle 2)

Stoffe	Stoffkonzentration	Stoffkonzentration
	in mmol/l	in g/l
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	75	13,07
MgSO <sub>4</sub>	10	1,204
NaCL	10	0,58
NA <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	3	0,426
NA <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> * 2 H <sub>2</sub> O	3	0,534
Polyethylenglycol (PEG) 4000	10 %	100
Saccharose	40	13,7

**Tabelle 2:** Zusammensetzung der PEG Konservierungslösung II nach von Baeyer (von Baeyer et al. 1997)

## 2.5 Präparation der Nierengefäße

Vor der weiteren Präparation in unserem Labor wurde das Nierengewicht erneut gemessen. Neben der bereits im Schlachtraum durchgeführten Kanülierung und Ligierung der Arteria renalis wurde die Vena renalis, der eisgekühlten, Tuch-geschützten Niere im Perfusionssaal aus dem Fettgewebe freipräpariert.

Ein abknicksicherer Kunststoffschlauch wurde in die Vena renalis eingeführt, ligiert und zugfest mit 4/0 Vicryl®-Fäden<sup>4</sup> befestigt. In den abgehenden Ureter wurde ein kleinlumiger Kunststoffschlauch eingeführt und ebenfalls über 4/0 Vicryl®-Fäden ligiert und zugsicher am Ureter fixiert.

## 2.6 Weiterverarbeitung des autologen Blutes

Das auf dem Schlachthof gewonnene autologe Blut wurde im Perfusionssaal aus den Kunststoffflaschen in spezielle 500 ml Bluttransfusionsbeutel<sup>5</sup>, beschichtet mit Natriumzitrat (Gerinnungshemmer), umgefüllt. Erneut wurde das Blut mit 1 ml Liquemin-N<sup>®6</sup> = (5.000 IE Heparin-Natrium), und 2 ml Isoptin<sup>®7</sup> (= 5 mg Verapamilhydrochlorid) versetzt.

<sup>4</sup> (Ethicon, Norderstedt)

<sup>5</sup> (Biopack<sup>®</sup> CPDA-1, Fa. Biotrans Dreieich, Deutschland)

<sup>6</sup> (Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen Schweiz).

<sup>7</sup> (Knoll Pharmaceuticals, Ludwigshafen, Deutschland )

Für die spätere Berechnung der Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance als Schätzung der GFR wurde vor Perfusionsbeginn jedem vollgefüllten Blutbeutel 5 mg Sinistrin<sup>®8</sup> beigegeben und im Beutel homogenisiert. Eine Kontrollprobe von 5 ml Blut mit und ohne Sinistrin<sup>®</sup> wurde mitgeführt.

## **2.7 Blutumlauf im Perfusionkreislauf**

Vor Anschluss des Bluttransfusionsbeutels an den Perfusionkreislauf wurde das Schlauchsystem mit circa 500 ml physiologischer Kochsalzlösung vorgefüllt und durchgespült. Die Lösung enthielt zusätzlich 2 ml Liquemin-N<sup>®</sup> = (10.000 IE Heparin- Natrium). Der Umlauf der Kochsalzlösung im Perfusionssystem diente der Entfernung von Luft. Außerdem sollte die Adhäsion geringer heparinierter Flüssigkeitsmengen im Schlauchsystem erreicht werden.

Bevor das Organ an das Perfusionssystem angeschlossen wurde, konnten Undichtigkeiten durch den Umlauf der Kochsalzlösung im Perfusionssystem frühzeitig erkannt und beseitigt werden. Zeitgleich wurde das Dialysat über den Wärmeaustauscher auf 38,5 °C erwärmt. Nach Vorwärmung des Perfusionssystems wurde der Blutbeutel mit dem arteriellen Schenkel des Systems verbunden. Hierzu wurden die Pumpen kurzzeitig abgestellt. Die von den arteriellen und venösen Schenkeln des Perfusionssystems zu- und abführenden Schläuche wurden abgeklemmt, um eine Luftverschleppung zu verhindern. Der arterielle Schenkel wurde mit der Arteria renalis konnektiert. Als nächstes wurden die arterielle Schlauchklemme entfernt und die Rollerpumpen wieder in Betrieb genommen. Das in das Perfusionssystem einströmende Blut schob die modifizierte Kochsalzlösung auf Seite des arteriellen Schenkels vor sich her und verdrängte es über die Vena renalis luftblasenfrei aus dem Perfusionssystem in ein Auffanggefäß.

## **2.8 Erwärmung der Niere und Perfusionsstart**

Im Anschluss an die Vorfüllung des Perfusionssystems mit autologem Blut wurde die Niere zur Aufwärmung (englischer Terminus: „warm rinsing“) mittels einer mit Konservierungsflüssigkeit gefüllten Infusionsflasche (Rezeptur nach v. Baeyer<sup>9</sup>), um die sich eine Druckmanschette befand, mit einem Druck von 80 - 100 mmHG erneut für 4 - 5 min durchspült. Unmittelbar an das „warm- rinsing“ wurde der Drei-Wege-Hahn (Verhinderung der Durchmischung mit Konservierungsflüssigkeit) in Richtung des arteriellen Schenkel geöffnet. Die intrarenal verbliebene Konservierungsflüssigkeit konnte durch das von den Rollerpumpen

---

<sup>8</sup> (Inulin-like, Fa. Fresenius, Linz, Österreich)

<sup>9</sup> (Zusammensetzung vgl. Tabelle 2).

bewegte Blutvolumen unter langsamen Vorschub auf der arteriellen Seite aus der Vena renalis gepresst werden. Nach Erscheinen des ersten venösen Blutes wurde die Vena renalis mit dem Perfusionssystem konnektiert. Ab diesem Zeitpunkt war der Perfusionskreislauf geschlossen. Die Rollerpumpen wurden erneut gestartet. Der Umlauf des Blutes, also der Kontakt der Niere mit Blut wurde als „Perfusionsbeginn“ protokollarisch festgehalten. Der in der Anfangsphase der Perfusion bereits gebildete „warm rinsing“ Urin wurde verworfen.

## **2.9 Flussvolumen des Perfusionssystems**

Die eingesetzten Mono- und Duokopf-Rollerpumpen besaßen ein stufenloses Regelsystem zur Veränderung des Flussvolumens, das manuell von Hand bedient wurde. Die untere und obere Grenze des regelbaren Volumenstromes ( $Q_B$ ) betrug 10 ml/min und 2000 ml/min.

Die Perfusion der 55 Versuchsnieren wurde normotherm mit circa 500 ml autologen Blut durchgeführt. Initial wurde mit einem Volumenstrom von circa 10 ml/min perfundiert. Der Volumenstrom wurde minütlich um 20 ml/min gesteigert, so dass ein konstanter ARP von circa 95 - 100 mmHg erreicht werden konnte. Erstmals wurden aus dem System nach 10 min Perfusionszeit drei, als  $A_1$  (arteriell),  $D_1$  (Dialysat) und  $S_1$  (Sinistrin<sup>®</sup>) bezeichnete Proben entnommen und gemessen.

Der ARP in der „steady-state“ Phase der perfundierten Nieren wurde über die Regulation des Volumenstrom ( $Q_B$ ) auf 100 mmHg konstant gehalten. Mit Erreichen eines dauerhaften von der Niere gehaltenen Gefäßwiderstandes von circa 0,4 mmHg\*min/ml bei konstantem ARP,  $Q_B$  und BGA- bzw. Dialysat-Werten wurde die sogenannte „steady-state“ Phase erreicht.

## **2.10 Aufbau der Perfusionseinheit**

Über ein Dialysemodul<sup>10</sup> standen zwei gegenläufige Kreislaufsysteme in Verbindung. Durch eine semipermeable Membran getrennt, flossen Blut und Dialysat innerhalb des Kreislaufsystems, dem Gegenstromprinzip folgend, aneinander vorbei. Die Verschiebung von Volumina auf der Dialysat- zur Blutseite, wie auch in umgekehrte Richtung, ermöglichte eine Anpassung der Volumenverhältnisse, die durch Urinbildung und Blutentnahmen notwendig waren. Mittels dieser Volumenverschiebung konnte das Blutvolumen konstant gehalten werden.

---

<sup>10</sup> (Kapillardialysator Polysulfone UF 6.4, Hemoflow F7, Fresenius AG, Bad Homburg, Deutschland)

Der Blutumlauf erfolgte durch ein nicht-pulsatiles Duokopf-Rollerpumpensystem<sup>11</sup>, der Dialysatumlauf (Zylindergefäß\dreiliter) durch ein Mono Rollerpumpensystem<sup>12</sup> mit einem Volumenstrom von 1,5 l/min. Während eines jeden Umlaufes wurde das Dialysat mit 2,5 % CO<sub>2</sub> (Volumenstrom von 36 ml/min) und 97,5 % O<sub>2</sub> (Volumenstrom von 500 ml/min) versetzt und mittels eines zweiten Wärmetauschers auf konstant 37 °C gehalten.

Das aus dem Dialysatmodul kommende oxygenierte Blut floss über einen zylindrischen Behälter, die sog. Luftfalle, in die kanülierte Arteria renalis. Dies diente der Vermeidung von Gasembolisationen. Die kontinuierliche Messung des ARP erfolgte über einen eingebrachten Drucksensor<sup>13</sup> an dem arteriellen Schenkel, der renal venösen Druckes (RVD) an dem venösen Schenkel.

Oberhalb beider Drucksensoren lag jeweils ein Drei-Wege-Hahn-System, das als Abnahmestelle für arterielle und venöse Blutproben diente.

Über einen mit der Vena renalis verbundenen Kunststoffschlauch floss das Blut dem hydrostatischen Gradienten folgend von der Niere in ein Blutbeutelreservoir zurück. Der RVD wurde durch Höhenverschiebung des Blutbeutel-Reservoirs bei  $9 \pm 4$  mmHg gehalten. Zur Überwachung des Blutvolumens im Blutkreislauf wurde das Gewicht des Blutbeutels kontinuierlich mit einer Zugwaage bestimmt. Nach jeder Blutprobenentnahme erfolgte eine erneute Tarierung. Ein intravasaler Temperatursensor<sup>14</sup> maß kontinuierlich die Temperatur des in die Arteria renalis einfließenden Blutes. Der während der Perfusion gebildete Urin wurde über einen Katheter abgeleitet und in einem Messzylinder gesammelt. Die Niere lag während der Perfusion in einer eigens dafür vorgesehenen Beuteleinheit. Diese Beuteleinheit wurde in eine nach oben offene Organkammer gelegt, die mit konstant warmen Wasser gefüllt war. Die Temperaturregelung des isotonischen Wasserbades erfolgte durch Verwendung eines Regelkreises bestehend aus einer Heizsonde und einem auf der Niere platzierten Temperatursensor. Durch diese Versuchsanordnung konnte gewährleistet werden, dass die Niere durch das sie umgebende Wasserbad gleichmäßig auf circa 38,5 °C erwärmt wurde. Gleichzeitig konnten lagerungsbedingte Druckstellen vermieden werden, die durch den Einsatz einer festen Organunterlage aufgetreten wären.

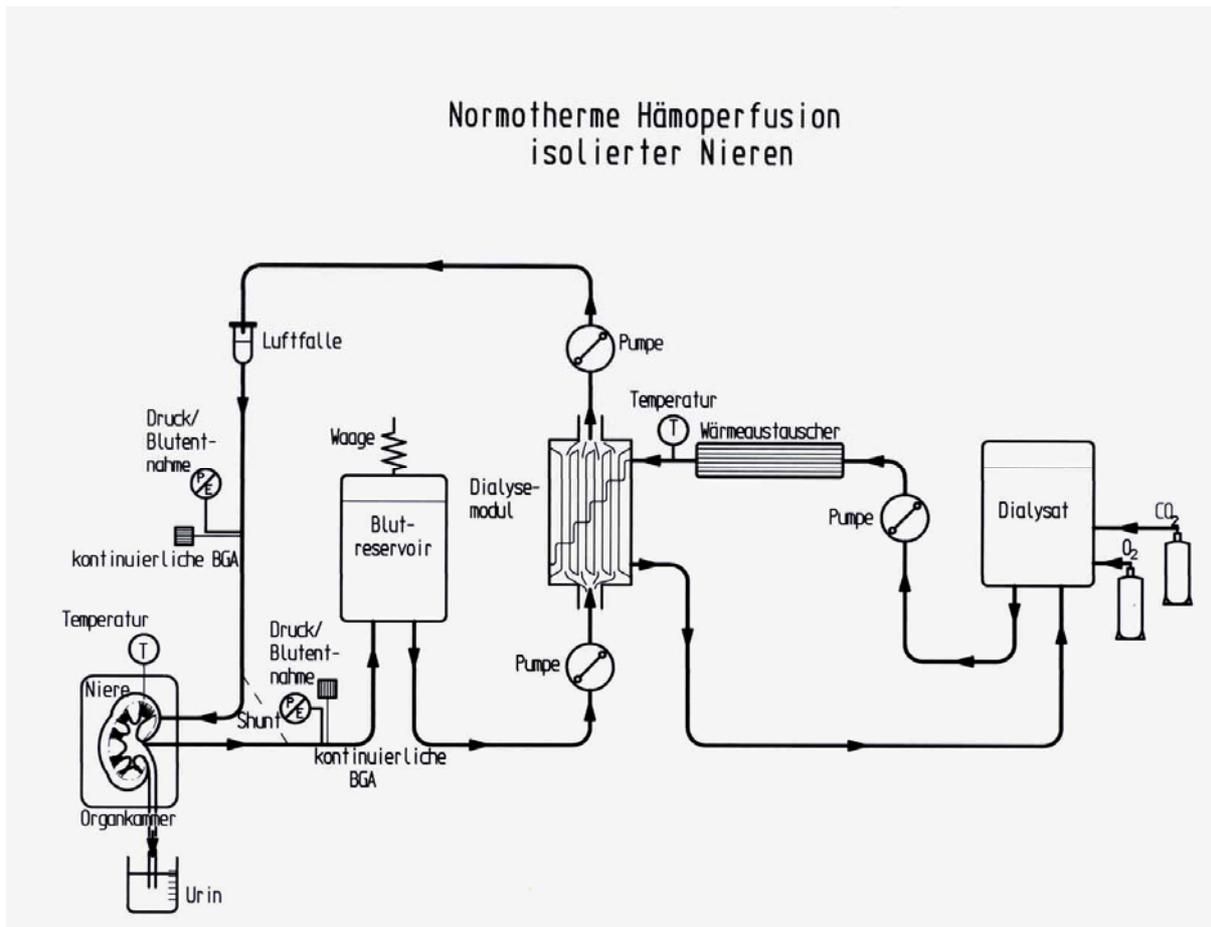
---

<sup>11</sup> (Multiflow, Typ 10 20 00, Stöckert Instrumente, München, Deutschland)

<sup>12</sup> (Multiflow, Typ 10 00 00, Stöckert Instrumente, München, Deutschland).

<sup>13</sup> (FA. Keller, Konstanz, Deutschland)

<sup>14</sup> (Typ 45-30-01, Fa. Stöckert, München, Deutschland)



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der Perfusionseinheit

Warme Ischämie	Kalte Ischämie	Warm-rinsing	Perfusion bis steady-state	steady -state: 20 min	40 min	60 min	80 min	100 min
19 ± 2 min	5 ± 0,5 h	5 ± 1 min	58 ± 14 min	1. Sammelphase Proben u. Clearance	2. Sammelphase Proben u. Clearance	3. Sammelphase Proben u. Clearance	4. Sammelphase Proben u. Clearance	5. Sammelphase Proben u. Clearance

**Abbildung 2:** Zeitlicher Verlauf von der Organgewinnung auf dem Schlachthof bis zur 100minütigen „steady-state“ Nierenperfusion

Stoffe	Stoffkonzentration in [mol/l]	Stoffkonzentration in [g/l]
Ca Cl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	1,5	0,22
D-Glukose	8,0	1,44
Harnstoff	5,0	0,3
KCl	4,0	0,3
Kreatinin	0,5	0,06
MgCl <sub>2</sub> 6 H <sub>2</sub> O	1,0	0,2
NaCl	110	6,43
NaHCO <sub>3</sub>	20,0	1,68
Na H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5	0,07

**Tabelle 3:** Zusammensetzung der Dialysatlösung (Tyrode-Lösung)

### 2.11 Sammelperioden während der „steady-state“ Nierenperfusion

Die Blutgas- und Elektrolytwerte<sup>15</sup> wurden fortlaufend während der Perfusion über einen Blut-Gas-Analysator nach 20, 40, 60, 80, 100 min bestimmt (Vgl. Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der Perfusion und Probengewinnung). Dazu gehörte auch der über das Monitorsystem in "real time" angezeigte ARP, der RVD, die Blut- und Nierentemperatur in °C, das Gewicht des Blutbeutelreservoirs in Gramm und das Flussvolumen ( $Q_B$ ) in ml/min.

Der pH-, der pO<sub>2</sub>-, der pCO<sub>2</sub>-, der Hämatokrit- Wert sowie Konzentrationen von Kalium, Natrium, Calcium und Magnesium waren in dieser Gleichgewichtsphase konstant und entsprachen in den physiologischen Werten des Schweinebluts. Das stabil eingestellte Gleichgewicht (engl.: „steady-state“) des Perfusionssystems ermöglichte jetzt die Bestimmung von Nierenfunktions- und Perfusionsparametern<sup>16</sup>.

Im Verlauf der "steady-state" Phase wurden zeitgleich 5 Sammelphasen zur Clearance-Bestimmung und zur Blutgasanalyse durchgeführt. In diesen Sammelphasen wurden Proben von arteriellem, venösem Blut, von Dialysat und Urin genommen. Die Proben trugen die Bezeichnung A<sub>2-6</sub> (arteriell), V<sub>2-6</sub> (venös), D<sub>2-6</sub> (Dialysat), U<sub>2-6</sub> (Urin). Unmittelbar vor jeder Probenentnahme wurden wenige ml Blut aus der entsprechenden arteriellen oder venösen Abnahmestelle vorgezogen, um die Proben nicht mit Blut zu verfälschen, das nicht im Perfusionskreislauf zirkulierte.

<sup>15</sup> (ABL 505, Fa. Radiometer, Kopenhagen, Dänemark)

<sup>16</sup> (vgl. Tabelle 3)

Im Anschluss an eine jede Sammelperiode folgten die jeweiligen Clearance-Perioden 2 - 6.

Der innerhalb der einzelnen Clearance-Perioden gebildete Urin wurde in einem Messzylinder gesammelt. Der Messzylinder befand sich circa 20 cm unter dem Nierenniveau.

Die Nierenperfusion war mit Abnahme der sechsten Sammelperiode und fünften Clearance-Periode abgeschlossen. Das Rollerpumpensystem wurde abgestellt. Die Nieren wurden vom Perfusionssystem getrennt. Das Nierengewicht wurde post perfusionem bestimmt und ins Versuchsprotokoll aufgenommen.

Zur makroskopischen Beurteilung des Parenchyms wurden die Nieren mit einem an dem oberen Hilus renalis medial ansetzenden Schnitt longitudinal gespalten. Es erfolgte eine Inspektion der äußeren und inneren Nierenrinde als auch des Nierenmarkes, um sicherzustellen, dass makroskopisch keine gravierenden Auffälligkeiten bestanden.

## **2.12 Funktionsparameter der isoliert perfundierten Schlachthofniere**

Die Aufbereitung der während des Versuchs gewonnenen Blut-, Dialysat- und Urinproben zur weiteren Labordiagnostik erfolgte unmittelbar nach Beendigung jeder Sammelperiode. Die 5 ml Blutproben wurden für 3 min bei 1000 \* g zentrifugiert. Der Plasma Überstand wurde in 2 ml Monovetten pipettiert und im Zentrallabor des Campus Virchow Klinikums<sup>17</sup> analysiert. Die gewonnenen Dialysat- und Urinproben wurden nicht zentrifugiert.

Die Kreatinin- und Sinistrinkonzentrationen in den Plasma- und Urinproben sowie die von  $\beta$ -N-Acetylgalaktosaminidase im Urin wurden, wie in 2.13, 2.15.1 und 2.17 beschrieben, bestimmt. Über die gesamte Perfusionsdauer wurden verschiedene, für die Charakterisierung der Nierenfunktion wichtige Werte gemessen (vgl. Tabelle 4). Die Bestimmung, der als „kleine Abnahme“ bezeichneten Werte, (vgl. Abbildung 2) erfolgte zu den Zeitpunkten nativ, präperfusionem und im „steady-state“ nach 20, 40, 60, 80 und 100 min.

---

<sup>17</sup> (vgl. Tabelle 3,4,5)

Funktionsparameter	Formel	Einheit
Kreatinin-Clearance	$= (U_{\text{Kreatinin}} / \text{Pl}_{\text{Kreatinin}}) * \text{VU}$	$\text{ml min}^{-1} 100\text{g}^{-1}$ Nierengewicht
Sinistrin <sup>®</sup> -Clearance	$= (U_{\text{Sinistrin}} / \text{Pl}_{\text{Sinistrin}}) * \text{VU}$	$\text{ml min}^{-1} 100\text{g}^{-1}$ Nierengewicht
$\beta$ -N-Acetylgalaktosaminidase	$V_a = \text{PV} (= 3\text{ml}) * 1000 / 40,67 * d *$ $\text{VU} (= 0,05 \text{ ml}) * t (= 15 \text{ min})$	$\text{U l}^{-1}$
arterieller/venöser O <sub>2</sub> -Gehalt	$\text{Hb}_{\text{arteriell (venös)}} \text{O}_2 = \text{Q}_B \text{ arteriell (venös)} *$ $\text{Hb}_{\text{arteriell (venös)}} / 100 * \text{Sa}_{\text{(venös)}} / 100$	$\text{ml dl}^{-1}$
Renal vaskulärer Widerstand	$R = P_{\text{arteriell}} - P_{\text{venös}} / \text{RPF}$	$\text{mmHg min ml}^{-1} 100\text{g}^{-1}$ Nierengewicht
Renaler Plasmafluß	$\text{RPF} = \text{RBF} * (1 - \text{HKT})$	$\text{ml min}^{-1} 100\text{g}$ Nierengewicht
Sauerstofftransport	$D_{\text{arteriell (venös)}} \text{O}_2 \text{ Konz.}_{\text{arteriell (venös)}}$ $\text{O}_2 * \text{Q}_B \text{ arteriell (venös)}$	$\text{ml min}^{-1} 100\text{g}^{-1}$ Nierengewicht
Sauerstoffverbrauch	$\text{VO}_2 = (D_{\text{arteriell}} \text{O}_2 - D_{\text{venös}} \text{O}_2) +$ $(\text{phys.O}_2 \text{ arteriell} - \text{phys.O}_2 \text{ venös})$	$\text{ml min}^{-1} 100\text{g}^{-1}$ Nierengewicht
Natrium-Exkretion	$U_{\text{Na}} \text{V} = U_{\text{Na}} * \text{VU} / 1000$	$\text{mmol min}^{-1} 100\text{g}^{-1}$ Nierengewicht
Filtrationsfraktion	$\text{FF} = \{ \text{GFR} / [\text{Q}_B \text{ arteriell} * (1 - \text{HKT}_a)] \}$ $* 100$	%

**Tabelle 4:** Formeln zur Berechnung von Nierenfunktionsparametern

**Tabelle 4 Abkürzungen:**  $D_{\text{arteriell}}$  = Druck,  $U_{\text{Na}} \text{V}$  = Natriumexkretion,  $d$  = Schichtdicke der Messküvette (= 1cm),  $\text{GFR}$  = glomeruläre Filtrationsrate,  $\text{HKT}$  = Hämatokrit,  $\text{Hb}$  = Hämoglobin,  $\text{FF}$  = Filtrationsfraktion,  $\text{PV}$  = Probenvolumen,  $\text{O}_2$  = Sauerstoff,  $\text{QB}$  = Volumenstrom,  $P$  = Partialdruck,  $\text{Pl}_{\text{Kreatinin}}$  = Kreatinin-Konzentration im Plasma,  $\text{Pl}_{\text{Sinistrin}}^{\text{®}}$  = Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration im Plasma,  $R$  = Renal vaskulärer Widerstand,  $\text{RBF}$  = renaler Blutfluss,  $\text{RPF}$  = renaler Plasmafluß,  $t$  = Zeit in min,  $U$  = Diurese,  $U_{\text{Kreatinin}}$  = Kreatinin - Konzentration im Urin,  $U_{\text{Sinistrin}}^{\text{®}}$  = Sinistrin<sup>®</sup> - Konzentration im Urin,  $U_{\text{Na}}$  = Natrium-Konzentration im Urin,  $V_a$  = Volumenaktivität,  $\text{VO}_2$  = Sauerstoffverbrauch,  $\text{VU}$  = Urinvolumen,  $E_{\text{max}} = 40,67$  (photometrisches Extinktionsmaximum von 3-Kresolsulfonphthalein).

### 2.13. Testprinzip der Sinistrin<sup>®</sup> (Inulin like) Bestimmung

Sinistrin<sup>®</sup> (Zusammensetzung siehe Anhang Testkombination Inuquant<sup>®</sup> Firma Fresenius, Linz, Österreich Inuquant<sup>®</sup>) wurde im ersten von fünf Reaktionsschritten in den Proben durch das Enzym Inulinase (37,5 U) zu Fruktose hydrolysiert.

Aus Gründen der Messgenauigkeit musste in der Plasma-, Dialysat- und Urinprobe vorhandene Glukose oxidiert werden. Die Oxidation erfolgte durch das Enzym Glukose-Oxidase (GOD), das die Glukose zu einem Glucono-1,4-lacton-Körper oxidierte. Dieser Reaktionsschritt erforderte die Anwesenheit von molekularem Sauerstoff, der zeitgleich aus Hydrogen-Peroxid freigesetzt wurde. Hydrogenperoxid wurde durch das Enzym Katalase zu Wasser und zu molekularem Sauerstoff umgesetzt. Zur Inaktivierung interferierender Enzyme, aus organischen Matrixbestandteilen der Probe, erfolgte bei 38/55 Nieren eine 20 min Inkubation der Proben in einem Wärmeschrank bei 56 °C. Bei 17/55 Nieren wurde die Inkubationszeit von 20 min auf 35 min verlängert, die Inkubationstemperatur von 56 °C auf 65 °C und die Konzentration der Inulinase von 37,5 U auf 75 U erhöht. Die Modifikationen waren notwendig, um eine ausreichende Hydrolyse und eine Inaktivierung von interferierenden Enzymen zu erreichen. Laut Herstellerangaben ist die Phospho-Glukose-Isomerase (PGI) in einer Plasma-Probe ein mit der Testmethode Inuquant<sup>®</sup> interferierendes Enzym. Bei nicht ausreichender Inaktivierung käme es zu einem vorzeitigen Umsatz von Fruktose zu Fruktose-6-Phosphat und damit zu verfälschten Messwerten. Im zweiten Arbeitsschritt wurde Fruktose mittels des Enzyms Hexokinase (HK) in Abhängigkeit von Adenosin-Tri-Phosphat (ATP) zu Fruktose-6-Phosphat (F-6-P) konvertiert. Die erste photometrische Messung<sup>18</sup> der Absorption von F-6-P erfolgte bei einer Wellenlänge von 340 Nanometer. In der abschließenden Reaktion wurde F-6-P über das Enzym PGI zu Glukose-6-phosphat (G-6-P) isomerisiert. Das Substrat G-6-P wurde in Anwesenheit von bereits oxidiertem Nicotinadenindinukleotid (NAD) und dem katalysierenden Enzym, der Glucos-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-DH), zu Gluconat-6-Phosphat oxidiert. Dabei wurde das NAD zu NAD+H<sup>+</sup> reduziert. Die Menge des gebildeten NAD+H<sup>+</sup> war zu der Menge von Fruktose molar äquivalent. Diese molar äquivalente Menge wurde erneut, wie zuvor der erste Messansatz, photometrisch<sup>19</sup> bei einer Extinktion von 340 nm bestimmt.

---

<sup>18</sup> (Photometer Ecom 6122, Firma Eppendorf, Hamburg, Deutschland).

<sup>19</sup> (Photometer Ecom 6122, Firma Eppendorf, Hamburg, Deutschland).

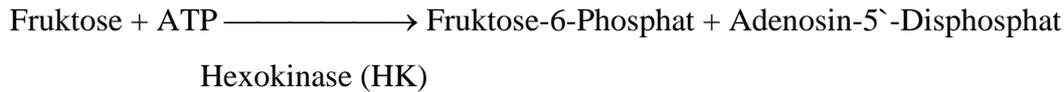




Wasserstoffperoxyd Katalase Wasser + molekularer Sauerstoff

Zwischenschritt: 4minütige Zentrifugation bei 2500 \*g

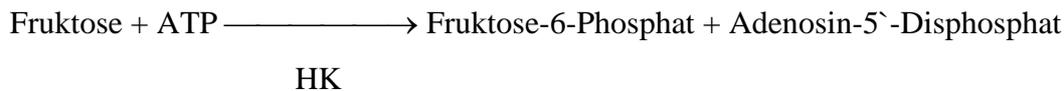
### **2.13.2 Schritt 2: Fruktose Phosphorylierung**



15minütige Inkubation bei Raumtemperatur

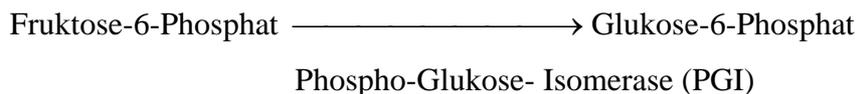
Erste photometrische Messung der Probe bei 340 nm

### **2.13.3 Schritt 2: Fruktose Phosphorylierung während der 15-minütigen Inkubation bei Umgebungstemperatur**



#### **1. Messschritt: Erste photometrische Messung der Probe bei 340 nm**

### **2.13.4 Schritt 3: Fruktose Isomerisierung während 15minütiger Inkubation bei 37°C**



#### **2. Messschritt: Zweite photometrische Messung der Probe bei 340 nm**

### **2.13.5 Berechnung der Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration in Plasma und Harn**

Bei präzise eingehaltenen Volumina, der eingesetzten Reagenzien und Proben war die Berechnung der Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration in mg/l nach zwei Formeln möglich (s.u.).

Die Hauptvoraussetzung für die Berechnung mittels der Formel war der bekannte molare Extinktionskoeffizient von Nicotin-adenin-dinucleotid-phosphat (NADH) bei unterschiedlichen Wellenlängen<sup>20</sup> (vgl. Tabelle 5).

---

<sup>20</sup> (vgl. Tabelle 4).

Ebenso musste die Molmasse von Fruktose (180,16 g/mol), das Probenvolumen in ml, das Endvolumen des Messansatzes in ml, die Schichtdicke der Messküvette in cm (1 cm), der Verdünnungsfaktor F (F unverdünnt = 1) bekannt sein.

Wellenlänge des Photometers in Nanometer (nm)	Extinktionskoeffizient von NADH in ml $\mu\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$
334	6,18
340	6,3
365	3,5

**Tabelle 5:** Extinktionskoeffizienten von NADH

Die erste Formel wurde gebildet aus Delta E ( $\Delta E$ ).  $\Delta E$  wurde errechnet aus der Messung der ersten Extinktion (E1) und zweiten Extinktion (E2) des Messansatzes. Dabei wurde E1 von E2 subtrahiert, so dass sich unter Einbeziehung der Eigenextinktion von destilliertem Wasser folgende Formel ergab:  $\Delta E = E2 - 0,958 E1 - (E2 \text{ leer} - 0,958 E1 \text{ leer})$ . Das  $\Delta E$  wurde im nächsten Schritt multipliziert mit dem Endvolumen des Messansatzes (V) multipliziert mit der Molmasse (M) von Fruktose (=180,16 g/mol). Dieser Term wurde in den Zähler aufgenommen. Der Zähler wurde dividiert durch die Eigenextinktion Epsilon-Lambda ( $\epsilon\text{-}\lambda$ ) des NADH, die mit der Schichtdicke (d) und dem Probenvolumen (v) multipliziert wurde und den Nenner bildete.

Die zweite Formel basierte auf dem mitgemessenen Inuquant<sup>®</sup>-Kalibrationsstandard.

Hierzu wurde die Sinistrin<sup>®</sup> Konzentration bestimmt, in dem die bekannte Fruktose-Konzentration des Standards mit dem gebildeten  $\Delta E$  und dem Verdünnungsfaktor (F) multipliziert wurde.

Dieser Term wurde dividiert durch das gebildete  $\Delta E$  des mitgeführten Standards.

Die untere Nachweisgrenze des Tests bei einer eingesetzten Wellenlänge von 340 nm lag nach Herstellerangaben bei circa 10 mg/l, die obere bei 1000 mg/l. Die Plasma und Urinproben wurden bei Überschreiten der oberen Nachweisgrenze verdünnt. Das Verdünnungsverhältnis wurde bei der Berechnung der Sinistrin-Konzentration berücksichtigt. Die zur photometrischen Bestimmung des Messansatzes eingesetzte Wellenlänge betrug 340 nm.

### 2.13.6 Arbeitsschritte zur Makrobestimmung von Sinistrin<sup>®</sup> im Plasma und Harn

Sämtliche Messansätze wurden als Doppelbestimmung durchgeführt.

Die im Verlauf der Perfusion gewonnenen Proben wurden bei minus 70 °C aufbewahrt. Zur Messung wurden die Plasma- und Urinproben in einem 37 °C warmen Wasserbad aufgetaut. In eine 1,5 ml große Eppendorfküvette wurde ein Volumen von jeweils 75 µl pipettiert. Zur Leerwertbestimmung wurden 75 µl destilliertes Wasser in eine 1,5 ml große Küvette pipettiert. Sämtliche Proben wurden nun nacheinander mit 75 µl der Reagenzien 1 und 2 des Inuquant<sup>®</sup>-Tests versetzt. Die Messproben wurden dicht verschlossen und mit einem Schüttler<sup>21</sup> gut homogenisiert. Es erfolgte eine 35minütige Inkubation der Messproben bei 65 °C in einem abgeschlossenen Wärmeschrank. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Messproben für 4 min mit 2500 g zentrifugiert.<sup>22</sup>

Der Überstand von 150 µl wurde von dem sich am Boden der Küvette gebildeten Proteinpellet in einem Volumen in eine neue 1,5 ml Eppendorf Küvette pipettiert.

Im nächsten Schritt wurden sämtliche Messproben mit 1 ml der Inuquant<sup>®</sup>-Test Reagenz drei versetzt. Die Proben wurden erneut durchmischt, so dass während der Reaktion gebildete Gasblasen vermieden wurden. Anschließend wurden die Proben in eine mit dem Photometer kompatible Küvette<sup>23</sup> überführt.

Eine erneute Inkubation der Messproben erfolgte 15 min bei Raumtemperatur. Zur Eichung wurde die Leerprobe E<sub>1</sub> (Extinktion) bei 340 nm gemessen. Dieser Wert wurde von dem Photometer gespeichert und von sämtlichen folgenden Messproben subtrahiert. Jeweils vor jeder Messung wurden die Proben neu durchmischt.

Im letzten Arbeitsschritt wurde den Messproben 50 µl Reagenz vier des Inuquant<sup>®</sup>-Tests zupipettiert. Die ganze Messreihe wurde wieder durchmischt und 15 min bei 37 °C in einem Thermostat<sup>24</sup> inkubiert. Die Bestimmung der Extinktion E<sub>2</sub> erfolgte erneut bei einer Wellenlänge von 340 nm.

Der Kontrollprobe mit 75 µl Wasser wurden sämtliche Reagenzien zugegeben und analog wie die Messreihen weiterverarbeitet.

---

<sup>21</sup> (Press-to-mix, Firma Cenco, Niederlande)

<sup>22</sup> (Varifuge RF, Firma Heraeus, Berlin, Deutschland).

<sup>23</sup> (E-4072/10, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland)

<sup>24</sup> (Fa.Eppendorf, Hamburg, Deutschland)

### **2.13.7 Sinistrin<sup>®</sup>-Standards und -Verdünnungsreihen zur Qualitätskontrolle**

Zur Überprüfung der Validität der Sinistrin<sup>®</sup>-Messungen wurden zwei mitgelieferte Standards I und II (Sinistrin<sup>®</sup>-Standard I = 949,02 mg/l, Standard II = 576,68 mg/l) der Firma Fresenius wie in der oben beschriebenen Messanleitung bestimmt. Zusätzlich wurden Sinistrin<sup>®</sup>-Verdünnungsreihen (n = 6) in einem Messbereich zwischen 0,0 und 2,5 mg/ml angesetzt. Ausgehend von einer Stammlösung mit 2,5 mg Sinistrin<sup>®</sup>/ml Aqua dest. wurde für die Testreihe die Lösung sechsmal in einem Verhältnis von 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 und 1:64 verdünnt.

### **2.14 Bestimmung der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance an narkotisierten Schweinen als in-vivo Kontrollgruppe**

Ein Vergleich der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance in-vivo mit der Clearance der extrakorporalen perfundierten Schlachthausniere wurde an sechs Schweinen durchgeführt. Hierzu wurden 25 - 30 kg schweren Schweinen (Deutschen Landrasse) in der Tierversuchsabteilung der Charité, Campus Virchow-Klinik als in-vivo Kontrollgruppe herangezogen. Durch präoperative intramuskuläre Gabe von Azaperon (200 mg/kg KG i.m.) wurden die Tiere sediert und mit Atropin (0,0025 mg/kg KG i.m.) zur Reduktion des Speichelflusses und der gastrointestinalen Motilität behandelt. Die Narkose erfolgte mittels Metomidat i.v. (10 mg/kg/KG/h i.v.), Fentanyl (0,01 mg/kg/KG/h i.v.), (bd. Hexal, Holzkirchen, Deutschland), sowie einer Einzeldosis Pancuronium (Schwabe-Curamed, Karlsruhe, Deutschland) von 0,1 - 0,2 mg/kg/KG i.v. Im Anschluss erfolgte die Intubation und Beatmung der Tiere. Die Tiefe der Narkose wurde mittels Herzfrequenz und arteriellem Blutdruck kontrolliert. Die Beatmung erfolgte maschinell mit einem Luft-/Sauerstoff-Gemisch (O<sub>2</sub>-Anteil 50 %). Das Atemminutenvolumen schwankte zwischen 120 ml/kg KG und 150 ml/kg KG, die Atemfrequenz betrug 10 - 14 /min. Es wurde eine systemische Heparinisierung (250 U/kg/KG i.v.) durchgeführt. Die Kreislaufparameter wie arterieller renaler Perfusionsdruck (ARP) in mmHg, zentralvenöser Druck (RVD) in mmHg und Herzfrequenz in min<sup>-1</sup> wurden kontinuierlich aufgezeichnet. Den Schweinen wurde in Narkose vor Versuchsbeginn ein Blasenkatheter gelegt, sowie zwei venöse und ein arterieller Zugang. Um einen gut messbaren Bereich für Kreatinin und Sinistrin<sup>®</sup> zu erreichen, wurden vor Beginn der ersten Sammlerperiode 70 mg/kg Sinistrin<sup>®</sup> und 90 mg/kg Kreatinin als Bolus intravenös gegeben. Zur Aufrechterhaltung des Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Spiegels wurde eine Erhaltungsdosis als Dauerinfusion gegeben. Sinistrin<sup>®</sup> wurde in einer Konzentration von 60

mg/h und Kreatinin in einer Konzentration von 600 mg/h über einen intravenösen Zugang verabreicht. Die Infusion erfolgte kontinuierlich über ein elektronisch geregeltes Infusionssystem<sup>25</sup>.

Nach circa 60minütiger Versuchsdauer begann die erste Sammelperiode von Urin. Vor Beginn der ersten Sammelperiode wurde die Harnblase mehrfach mit 200 - 400 ml destilliertem Wasser gespült und geleert. Ab Beginn der ersten Sammelperiode wurde der während der 20minütigen Sammelperiode gebildete Urin in einem Messzylinder gesammelt. Zum Ende einer jeden Sammelperiode wurde die Harnblase vorsichtig mit Luft gefüllt. Dadurch wurde das verbliebene Restharnvolumen in Richtung Katheteröffnung gedrückt und eine nahezu vollständige Entleerung der Harnblase erreicht. Gleiches wurde durch vorsichtiges Ausüben eines leichten Druckes auf die Harnblase erzielt. Das gebildete Urinvolumen wurde in einem Messzylinder gesammelt, gemessen und protokolliert. Eine Probe von 3 ml Urin wurde zur Bestimmung der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Konzentration aufbewahrt. Zu Beginn und zum Ende einer jeden Sammelperiode wurden 4 ml Blut abgenommen. Das Blut wurde 2 min bei einer Umdrehung vom 1000 g zentrifugiert. Aus dem abpipettiertem Plasma wurde die Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration bestimmt<sup>26</sup>. Es folgte die Berechnung der renalen Clearance<sup>27</sup>. Die Versuchsdauer betrug circa 2,5 Stunden.

### **2.15 Testprinzip der Bestimmung der N-Acetyl-β-D-glucosaminidase (β-NAG)**

Die Bestimmung von β-NAG im Urin erfolgte mit einem photometrischen Farbttest<sup>28</sup>. Das Prinzip beruhte auf der hydrolytischen Freisetzung von 3-Kresolsulphonphthalein und N-Acetylglukose aus 3-Kresolsulphonphthaleinyl-N-Acetyl-β-D-glucosaminid katalysiert durch die β-NAG. Das freigesetzte 3-Kresolsulphonphthalein wurde photometrisch<sup>29</sup> bei einer Wellenlänge von 580 nm gemessen.

Das Absorptionsmaximums des freigesetzten Chromophors 3-Kresolsulphonphthalein und der maximale Substratumsatz von 3-Kresolsulphonphthaleinyl-N-Acetyl-β-D-glucosaminid lag bei einem durch die Puffersubstanz aus Reagenz 2 des Böhringer Test-Kitts eingestellten pH- Wert der Messprobe von 6,25 bis 6,50. Es wurde ein Messstandard<sup>30</sup> mit einer definierten Menge von β-NAG in Höhe von 18,2 mUml<sup>-1</sup> mitgeführt. Die Berechnung der Enzymaktivität erfolgte,

---

<sup>25</sup> Fa. Perfusor Secura FT

<sup>26</sup> vgl. Kapitel 2.13, 2.17

<sup>27</sup> vgl. Tabelle 4

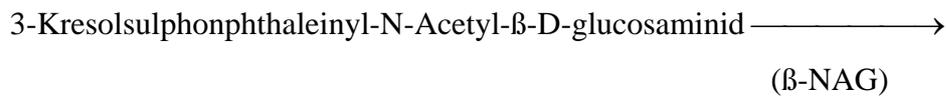
<sup>28</sup> Farbttest, β-N-Acetylglucosaminidase, Boehringer Mannheim AG, Deutschland

<sup>29</sup> Ecom 6122, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland

<sup>30</sup> β-NAG Standard,Boehringer Mannheim, Deutschland

in dem das Gesamtvolumen von 3,05 ml mit 1000 multipliziert und in den Zähler gesetzt wurde. Der Nenner bildete sich aus dem bekannten Absorptionsmaximum des 3-Kresolsulphonphthaleinyl. Das Absorptionsmaximum des 3-Kresolsulphonphthaleinyl betrug bei der eingesetzten Wellenlänge von 580 nm 40,67 (absolute Einheit). Die Extinktion von 40,67 wurde multipliziert mit der 1 cm Schichtdicke der Messküvette, dem Messprobenvolumen von 0,005 ml, der t = Gesamtkubationszeit von 15 min und dem Verdünnungsfaktor F von 1.

### 2.15.1 Darstellung der $\beta$ -NAG Reaktionsabläufe:



3-Kresolsulphonphthalein + N-AcetylGlukose

### 2.15.2 Arbeitsschritte zur Bestimmung von $\beta$ - NAG:

Die nach der Perfusion gewonnenen Urinproben wurden in einem minus 70 °C kalten Gefrierschrank 30 Tage aufbewahrt. Zur Messung der Enzymaktivität wurden die Urinproben in einem 37°C warmen Wasserbad aufgetaut. Die verflüssigten Messproben wurden für 5 min mit 2500 \*g zentrifugiert<sup>31</sup>. Der Urinüberstand wurde von dem sich am Boden der Küvette gebildeten Proteinpellet in einem Volumen von 1 ml aufgenommen.

Ein ml des Reagenz 2<sup>32</sup> wurden in eine für das Photometer-kompatible Küvette<sup>33</sup> pipettiert. Zum Erreichen der optimalen enzymkinetischen Eigenschaften des Farb Tests wurde das Reagenz 2 der Fa. Böhlinger-Ingelheim, Mannheim, Deutschland Test-Kitts min bei 37 °C im Thermostat<sup>34</sup> inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde dem Reagenz 2 das Messprobenvolumen von 0,05 ml zupipettiert und mit einem Aufmischer<sup>35</sup> gut homogenisiert und erneut 15 min im Thermostat bei 37 °C inkubiert. Die ablaufende Reaktion wurde nach Beendigung der Inkubationszeit mit der Zugabe des Reagenz 3<sup>36</sup> zum Stillstand gebracht. Nach 10 min erfolgte die photometrische<sup>37</sup> Extinktionsmessung der Kontrollprobe bei 580 nm.

<sup>31</sup> Varifuge RF, Firma Heraeus, Berlin, Deutschland

<sup>32</sup> vgl. Tabelle 5, 6

<sup>33</sup> E-4072/10, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland

<sup>34</sup> Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland

<sup>35</sup> Press-to-mix, Firma Cenco, Niederlande

<sup>36</sup> Stoppreagenz vgl. Tabelle 6

<sup>37</sup> Ecom 6122, Firma Eppendorf, Hamburg, Deutschland

Dieser Wert wurde von dem Photometer gespeichert und von sämtlichen folgenden Messproben subtrahiert. Der Leerwertproben wurden analog den übrigen Proben behandelt. Im Fall einer zu geringen  $\beta$ -NAG-Aktivität hätte die Gesamtkubationszeit auf 30 - 60 min erhöht werden können. Dies wäre bei der Berechnung der Enzymaktivität berücksichtigt worden. Alle Werte von  $\beta$ -NAG im Urin wurden als Doppelbestimmung photometrisch ermittelt.

Reagenz	Inhaltsstoffe
1	Puffersubstanz, in 55 ml destilliertem Wasser gelöst, bestehend aus Zitronensäure, Kaliumzitat
2 (in Reagenz 1 gelöst)	Lyophilisiertes Substrat, bestehend aus 3-Kresolsulphonphthaleiny-N-Acetyl- $\beta$ -D-glucosaminid, Natriumsalz, Borax
3	Stoppreagenz, bestehend aus Natriumcarbonat

**Tabelle 6:** Testkombination  $\beta$ - NAG Boehringer-Ingelheim, Mannheim, Deutschland

### 2.16 Bestimmung von $\beta$ -NAG Referenzwerten

Die Referenzwerte für  $\beta$ -NAG wurden aus dem Urin von 10 gesunden Schweinen ermittelt. Diese Tiere stammten aus der Haltung der Tierexperimentellen Einrichtung, Campus Virchow-Klinikum der Charité. Die Schweine waren zwischen 25 und 35 kg schwer. Die Tiere wurden entsprechend den gültigen Richtlinien für Versuchstiere gehalten. Der Urin wurde durch leichtes Klopfen auf die Harnblase und des damit ausgelösten urethro-vesikalen Reflexes gewonnen. Die Verarbeitung der Urinproben erfolgte wie in Kapitel 2.15.1 beschrieben.

### 2.17 Bestimmung von Kreatinin im Plasma, Urin und Dialysat

Die Messung von Kreatinin (Kreatinin-Analyzer II<sup>38</sup>) durch dieses Gerät basierte auf der photometrischen Jaffé-Reaktion durch Anwendung kinetischer Messtechnik (Messbereich 0,2 mg/dl und 25 mg/dl). 25  $\mu$ l des Probevolumens wurden in eine Kammer mit einer Tiefe von

<sup>38</sup> Fa. Beckman, USA

10 mm pipettiert. In der Kammer befand sich modifiziertes Jaffé-Reagenz<sup>39</sup>. Aus dem Kreatinin der Plasma-, Urin- und Dialysatprobe und der Pikrinsäure bildete sich ein roter Farbkomplex, dessen Extinktionsanstieg bei einer Wellenlänge von 520 nm gemessen werden konnte. Die Reaktionsgeschwindigkeit war direkt proportional zur Kreatinin-Konzentration. Proben außerhalb des Messbereichs wurden mit destilliertem Wasser verdünnt. Sämtliche Proben wurden als Doppelbestimmung im Anschluss an den Versuch gemessen. Die Messwert-Kontrolle erfolgte durch einen mitgeführten Standard<sup>40</sup>.

## 2.18 Statistische Auswertung

Für die statistische Berechnung wurden die Programme Sigma-Plot und SPSS verwendet. Die arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und die Standardfehler der Mittelwerte ( $\pm$  SEM) wurden nach Prüfung der Normalverteilung für die Tabellen berechnet, nicht normalverteilte Daten wurden in der Medianstatistik geprüft. Statistische Unterschiede wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test oder den Wilcoxon-Test berechnet.

Für die Ergebnisdarstellung wurden Box-Plots gewählt. Die untere und obere Box-Plots Kante zeigt die 25.- und 75. Perzentile. In jeder Box liegen 50 % des Stichprobenumfangs. Innerhalb der Box gibt die durchgezogene Linie den Median wieder. Die "Whisker Caps" umfassen die 5.- und 95. Perzentile. In diesem Bereich liegen 90 % des Stichprobenumfangs. Die Ausreißer sind als Punkte außerhalb der Box-Plots zu erkennen.

Zur statistischen Auswertung der Nierenfunktionsparameter nach Einteilung in Nierengruppe I und II (Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem  $<$  bzw.  $>$  30 %) wurde eine nichtparametrische Varianzanalyse über die Perfusionszeit zwischen den Gruppen I und II durchgeführt (E. Brunner et al. 2001, Verlag John Wiley & Sons, Inc.). Unterschiede zwischen den Verteilungen der ermittelten Parameter wurden bei einem p-Wert = 0,01 als statistisch signifikant bezeichnet.

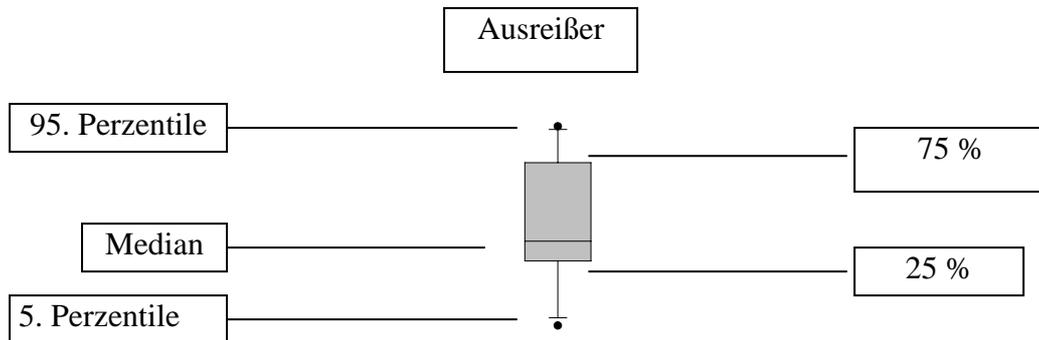
Für den direkten Methodenvergleich von Kreatinin und Sinistrin<sup>®</sup> wurden **Bland-Altman-Plots verwendet**: Die gestrichelte Bezugslinie in den Plots befindet sich in Höhe des Mittelwertes der Differenzen der Messwerte der Sinistrin<sup>®</sup>- minus der Kreatinin-Clearance (MW 5,85; Stabw. 8,63). Über der Mittelwertlinie befindet sich eine Gerade, die sich aus dem MW plus der doppelten Stabw. und unterhalb minus der doppelten Stabw. ergibt.

---

<sup>39</sup> Fa. Beckman, Alkalischer Puffer, Pikrinsäure, USA

<sup>40</sup> Fa. Beckman, Kreatinin Standard, USA

Der Bereich innerhalb der oberen und unteren Bezugslinie enthält 95 % der Messwerte (Übereinstimmungsbereich).



**Abbildung 4:** Darstellung eines „Box-and-Whisker Plots“ mit Bezeichnung des Medians (durchgezogene Linie) und der Perzentilen

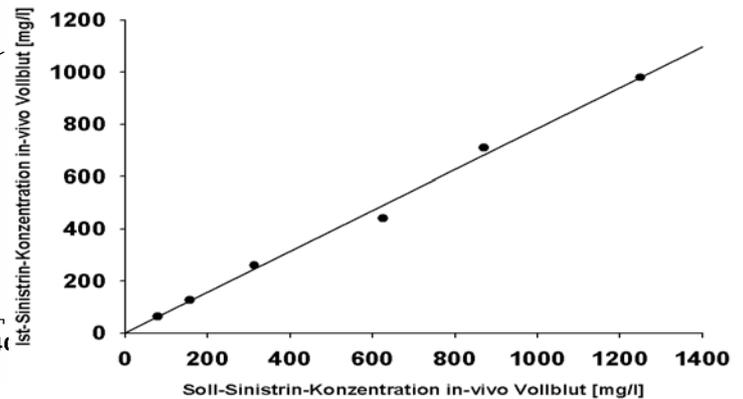
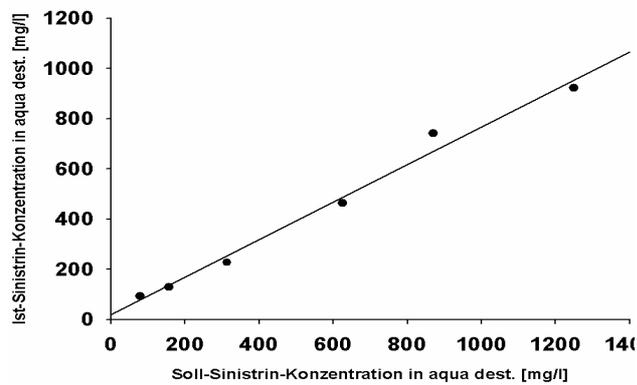
## 3 Ergebnisse

### 3.1 Sinistrin<sup>®</sup>-Messung

Insgesamt wurden 55 Schlachthausnieren normotherm mit autologem Blut isoliert perfundiert. Eine fehlerfreie Messung der Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration im Plasma konnte mittels der Inuquant<sup>®</sup>-Messmethode bei 17 von 55 Nieren durchgeführt werden (Doppelwertbestimmung bei Fehlerabweichung < 5 %). In den Plasmaproben von 38 Nieren wurden photometrisch negative Extinktionen gemessen, bei gleichzeitig fehlerfrei gemessenen Sinistrin<sup>®</sup>-Standards der Fa. Fresenius (vgl. Kapitel 2.13.7 und 2.14). Eine Berechnung der Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration im Plasma konnte nicht durchgeführt werden. Die Messung von Sinistrin<sup>®</sup> im Probenurin ergab bei allen 55 Nieren positive Extinktions-Werte, jedoch erst nach 4minütiger Abzentrifugation der in den Urin übergetretenen Proteine. Messfehler konnten durch die oben erwähnten routinemäßig mitlaufende Sinistrin<sup>®</sup>-Standards, eigens angesetzten Verdünnungsreihen von Sinistrin<sup>®</sup> in Aqua dest., Plasma- und Urinproben von lebenden Schweinen ausgeschlossen werden.

Erst nach Modifikationen einzelner Arbeitsschritte der Analyseanleitung konnten photometrisch positive Extinktionswerte bei der Messung des Sinistrins<sup>®</sup> im Plasma der isoliert perfundierten Schlachthausniere gemessen werden. Zur Inaktivierung möglicherweise interferierender aus renalen Matrixbestandteilen freigesetzten Enzyme wie der in der Arbeitsanleitung der Fa. Fresenius beschriebenen Phospho-Glukose-Isomerase (PGI), wurde die Inkubationszeit von 20 min auf 35 min verlängert und gleichzeitig die Inkubationstemperatur schrittweise von 56 °C auf 65 °C erhöht. Die 35minütige Inkubationszeit, eine Inkubationstemperatur von 65 °C und eine Erhöhung der Inulinase-Konzentration von 37,5 U auf 75 U ergaben die Umschlagspunkte, ab denen bei einer Wellenlänge von 340 nm photometrisch positive Extinktionen in den Plasmaproben gemessen werden konnten.

### 3.1.1 Qualitätskontrollen von Sinistrin®

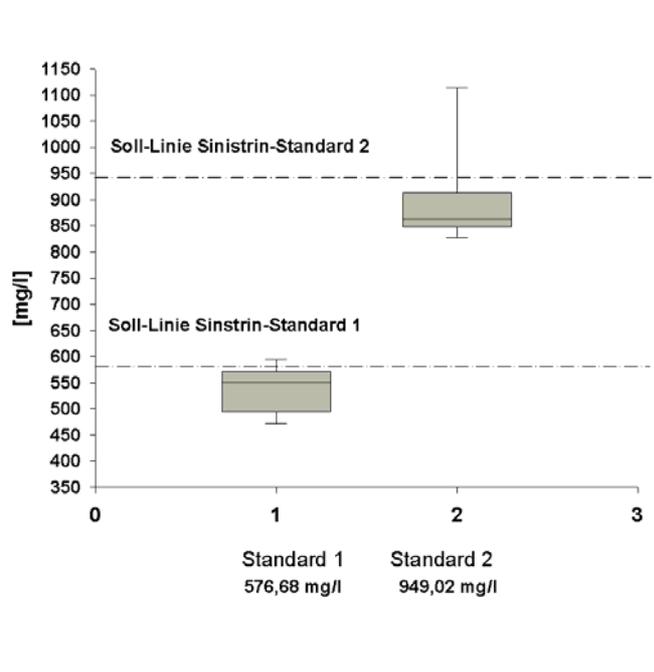


**Abbildung 5:** Darstellung der Mess- (Ist) und Referenzwerte (Soll) einer aufsteigenden Sinistrin®-Konzentrationsreihe (n=6) als Regressionsgerade zur Prüfung der Wiederfindungsrate von Sinistrin® in Aqua dest;  $r^2 = 0,99$

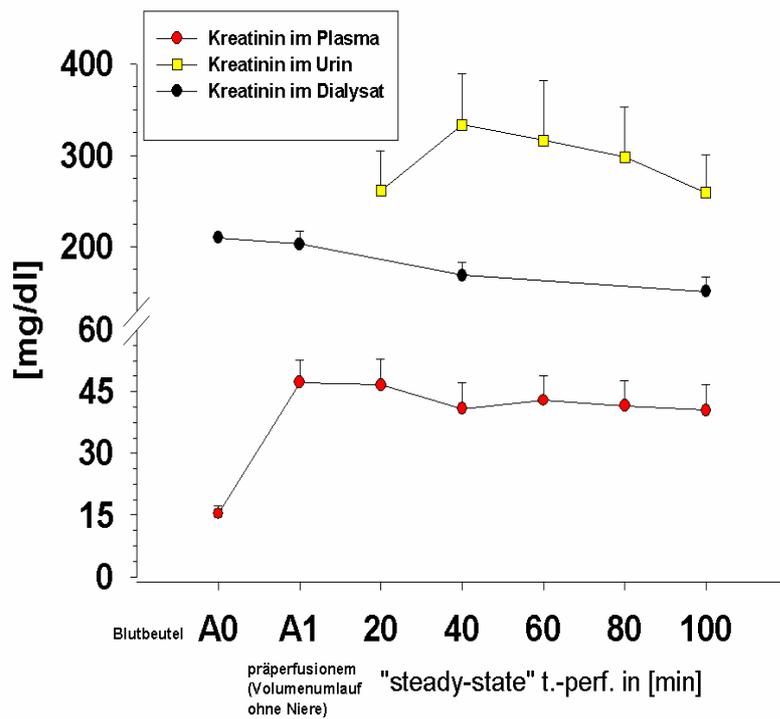
**Abbildung 6:** Darstellung der Mess- und Referenzwerte einer aufsteigenden Sinistrin®-Konzentrationsreihe (n=6) als Regressionsgerade zur Prüfung der Wiederfindungsrate von Sinistrin® in in-vivo Vollblut ;  $r^2 = 0,9$

Abbildung 5 zeigt eine Wiederfindungsrate von 92 % in einer Aqua dest. Verdünnungsreihe mit zunehmender Sinistrin®-Konzentrationen in einer Range von 75 mg/l - 1250 mg/l (n = 6).

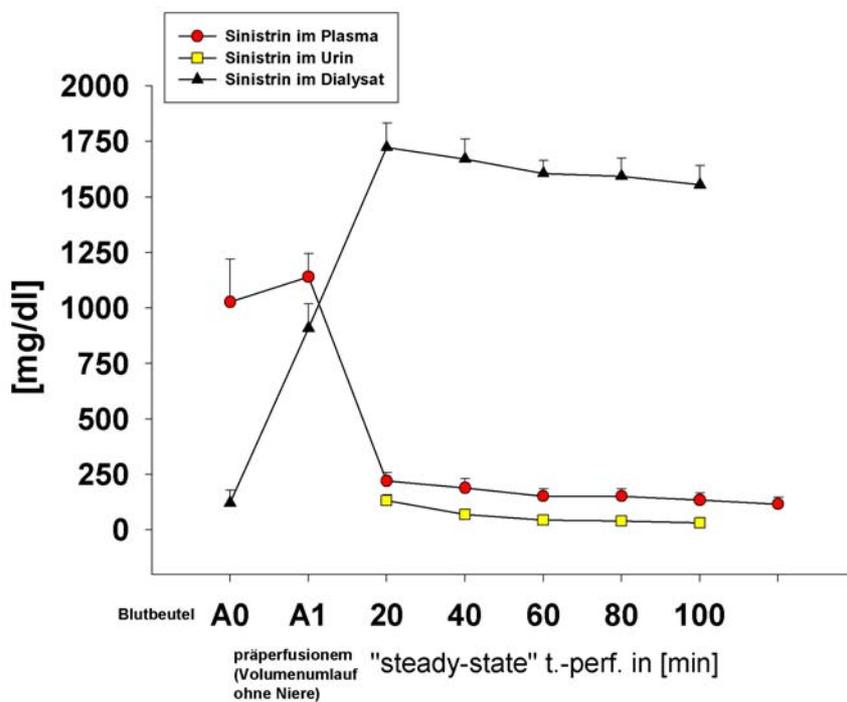
Abbildung 6 zeigt die Ergebnisse der Messung von Sinistrin® im Vollblut lebender Schweine. Bei gleicher abnehmender Sinistrin®-Konzentration betrug die Wiederfindungsrate 87,4 % (n = 6).



**Abbildung 7:** Wiederfindungsrate von Sinistrin® in definierten Standards der Fa. Fresenius dargestellt als Box-Plots im Vergleich von Mess- und Referenzwerten

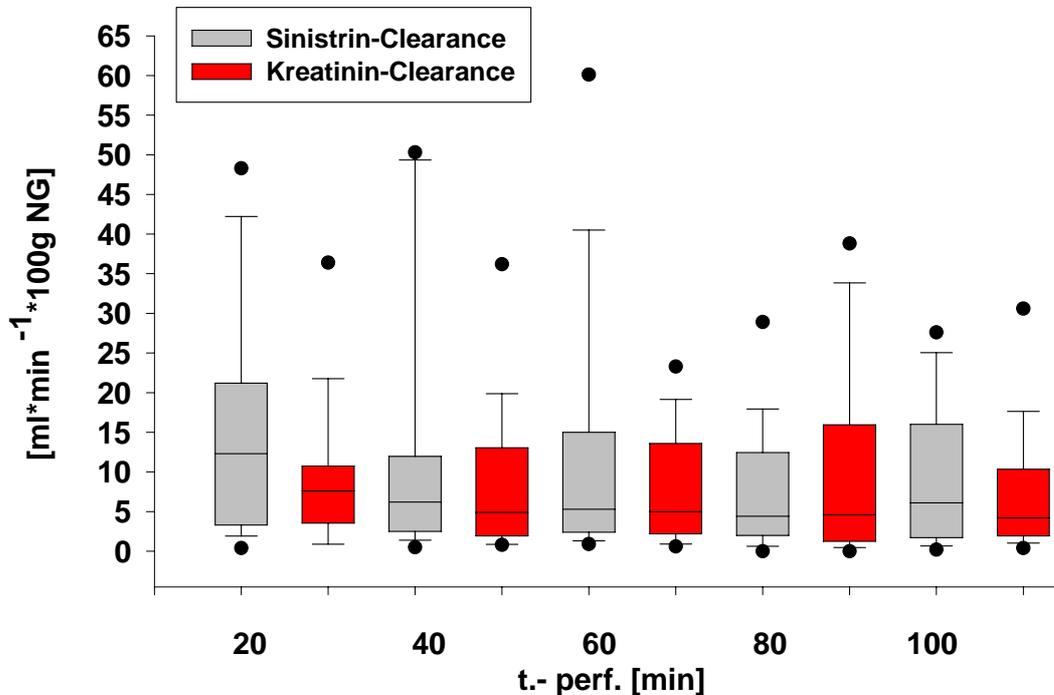


**Abbildung 8:** Zeitlicher Verlauf der Kreatinin Verteilung in Plasma, Dialysat und Urin sowie zu den „steady-state“ Perfusionszeitpunkten 20, 40, 60, 80 und 100 min



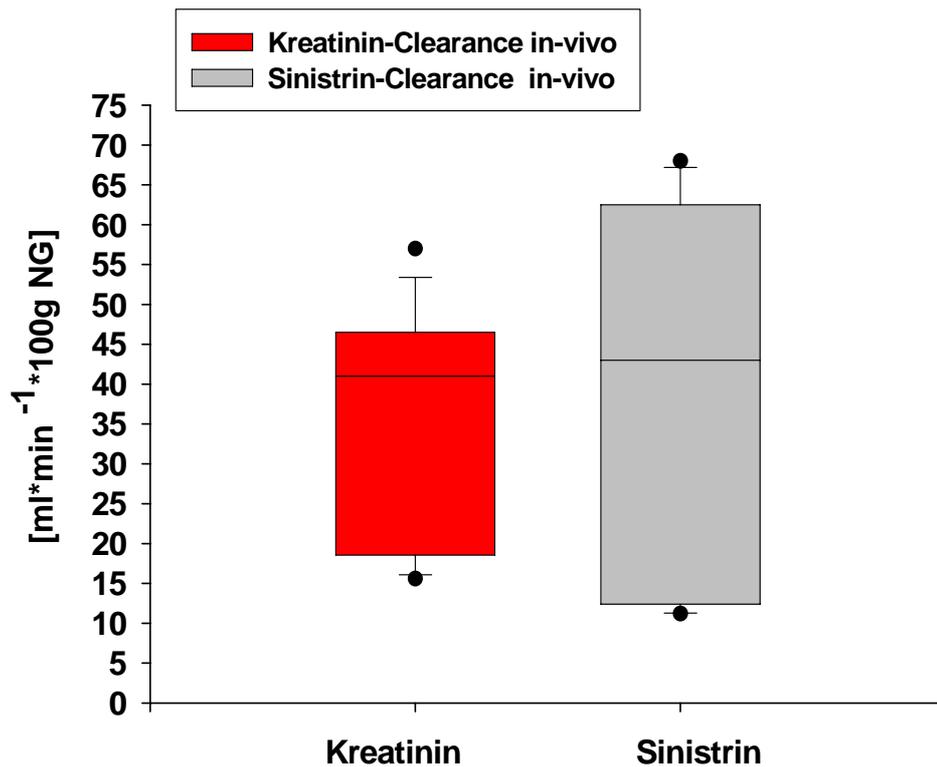
**Abbildung 9:** Zeitlicher Verlauf der Sinistrin<sup>®</sup> Verteilung in Plasma, Dialysat und Urin sowie zu den „steady-state“ Perfusionszeitpunkten 20, 40, 60, 80 und 100 min

### 3.2 Vergleich der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance



**Abbildung 10:** Vergleich der Clearance-Werte von Sinistrin<sup>®</sup> (Inulin like) und Kreatinin zu den „steady-state“ Perfusionszeitpunkten 20 - 100 min, (n = 17)

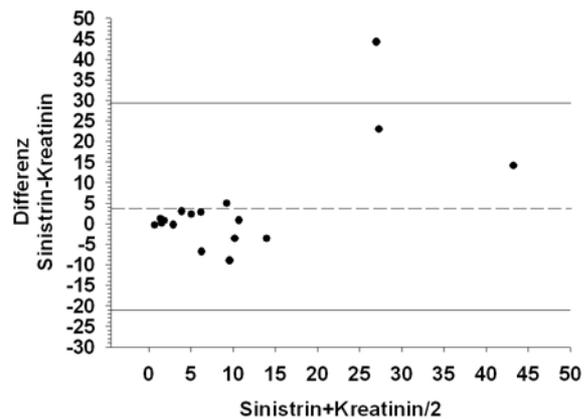
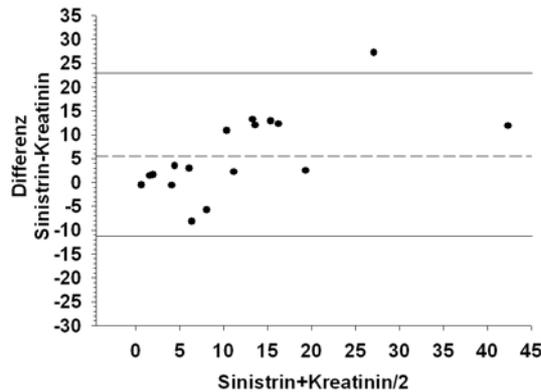
Signifikante Unterschiede zwischen der Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance bestanden nicht (vgl. Abbildung 10). Vereinzelt waren in der Anfangsphase der steady-state Perfusion bei der Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance größeren Streuungen darstellbar. Für Sinistrin<sup>®</sup> betrug die Clearance im Median zwischen 4,6 - 12,03 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG, für Kreatinin zwischen 4,2 - 7,6 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG. Die Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance zeigte in der Anfangsphase der Perfusion (Sammelperiode 20, 40 und 60 min) deutlich höhere Werte im Vergleich zur Kreatinin-Clearance. Zum Ende der Perfusion (Sammelperiode 80 und 100 min) war die Übereinstimmung der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance Werte im Median am größten (vgl. Tabelle 23, Tabelle 26; Abbildung 10, Abbildung 12 und Abbildung 16).



**Abbildung 11:** Vergleich von 30 Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance Werten von sechs narkotisierten Schweinen

Im Vergleich der in-vivo Werte der Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance zeigten sich bei den Median-Werten statistisch keine signifikanten Unterschiede. Lediglich der Umfang des 50%igen Stichprobenumfangs war bei Sinistrin<sup>®</sup> mit Werten zwischen 12 und 63 ml \* min<sup>-1</sup> \* 100g NG größer als bei Kreatinin mit 18 und 47 ml \* min<sup>-1</sup> \* 100g NG.

Zum Nachweis von Sinistrin<sup>®</sup> mittels der Inuquant-Messmethode in Plasma-Proben von narkotisierten, nierengesunden Schweinen mussten anders als bei den Proben der isoliert perfundierten Nieren keine Veränderungen des Analyseverfahrens vorgenommen werden.



**Bland-Altman-Plots in den Abb. 12 - 17**

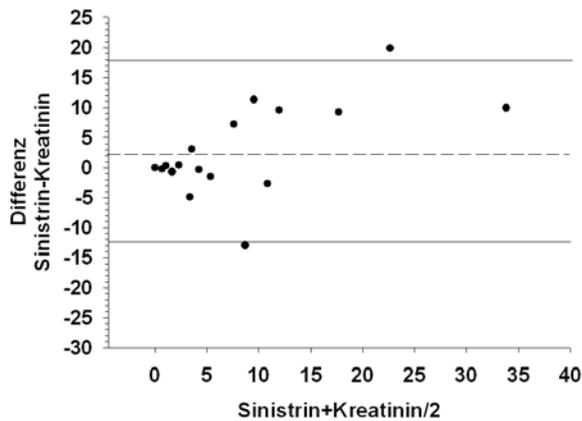
**Abbildung 12:** t.-perf. = 20 min;

MW der Differenz der Clearance-  
Methoden = + 5,8 ± 8,6 SD

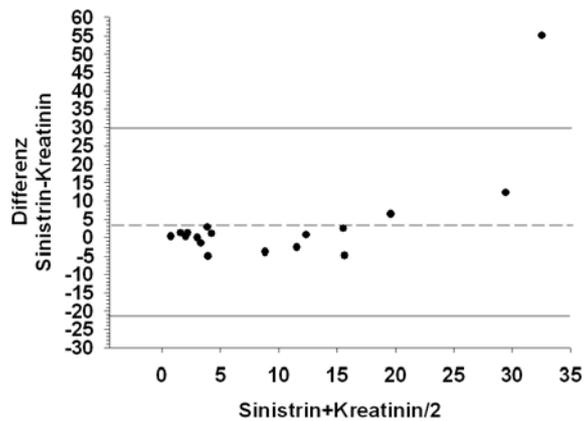
**Abbildung 13:** t.-perf. = 40 min;

MW der Differenz der Clearance-  
Methoden = + 4,3 ± 12,7 SD

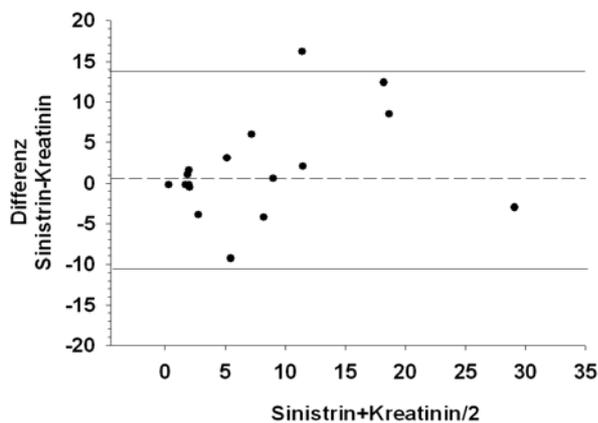
Die Kreatinin-Clearance war bei t.-perf. = 20 min zwischen 23 größer bzw. 11 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG kleiner (Abbildung 12) als die Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance. Die durchschnittliche Abweichung von der Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance betrug für die Kreatinin-Clearance zu diesem Perfusionszeitpunkt + 5,8 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG. Bei t.-perf. = 40 min waren die Kreatinin-Clearance Werte zwischen 29 höher und 21 niedriger pro ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG, die durchschnittliche Abweichung betrug + 4,3 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG (vgl. Abb. 13). Zum Perfusionszeitpunkt 60 min war die Kreatinin-Clearance zwischen 30 höher und 24 niedriger pro ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG als die Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance, die durchschnittliche Abweichung betrug jetzt + 3,9 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG (vgl. Abbildung 14), nach 80 min zwischen 18 höher und 12 niedriger pro ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG bei einer durchschnittlichen Abweichung von + 2,8 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG (vgl. Abbildung 15).



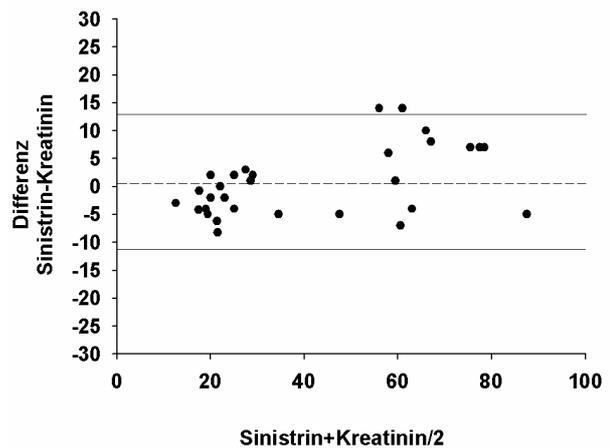
**Abbildung 14:** t.-perf. = 60 min;  
MW der Differenz =  $+ 3,9 \pm 13,8$  SD



**Abbildung 15:** t.-perf. = 80 min;  
MW der Differenz =  $+ 2,8 \pm 7,6$  SD



**Abbildung 16:** t.-perf. = 100 min;  
MW der Diff. =  $+ 1,8 \pm 6,2$  SD



**Abbildung 17:** In-vivo Kontrollgruppe der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance Werte, (n = 30). MW der Diff. =  $+ 0,62 \pm 6,1$  SD

Nach 100 min Perfusionszeit war der MW der Differenz zwischen der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance mit von 1,8 am kleinsten (Angaben MW der Differenz in absoluten Werten). Die Kreatinin-Clearance war mit 14 höher und mit 11 niedriger pro  $\text{ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$  als die berechnete Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance (vgl. Abbildung 16). Die durchschnittliche Abweichung von der Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance für die Kreatinin-Clearance betrug zum Perfusionsende  $+ 1,8 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ . In Abbildung 17 zeigt sich, dass in einer in-vivo Kontrollgruppe der MW der Differenzen und die Streuung der Werte um den MW zwischen

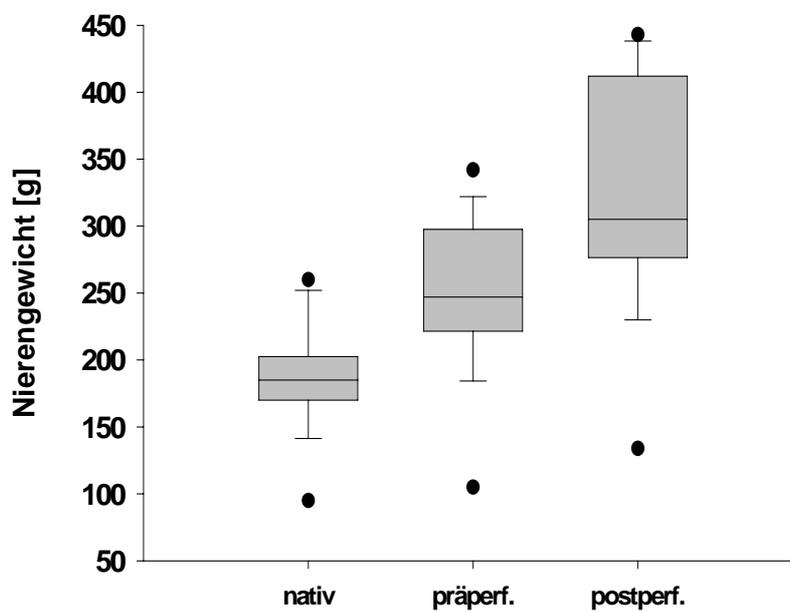
der Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance am geringsten war. Insgesamt wurde zu sämtlichen Perfusionszeitpunkten, die Sinistrin<sup>®</sup>- durch die Kreatinin-Clearance unterschätzt.

### 3.3 Schlachtvorgang

#### 3.3.1 Organischämie

Die warme Ischämiedauer der 17 Nieren betrug zwischen 15 min und 23 min., die kalte Ischämiedauer zwischen 4,5 h und 5,7 h. Die Mittelwerte für die warme Ischämiedauer betragen  $19 \pm 2,4$  min und für die kalte Ischämiedauer  $5 \pm 0,5$  h (vgl. Tabelle 37).

#### 3.3.2 Nierengewicht



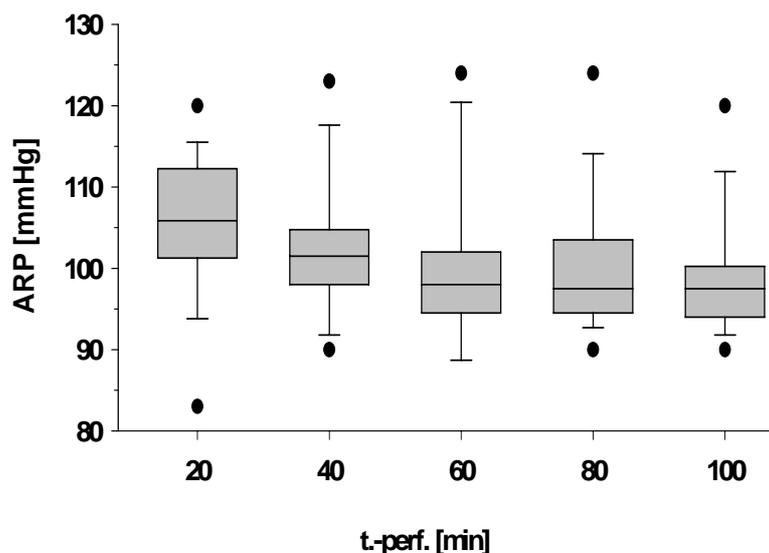
**Abbildung 18:** Nierengewicht (NG) der Schlachthausniere unmittelbar nach der Schlachtung (nativ), nach hypothermer Konservierung und vor Anschluss an das Perfusionsystem (präperf.) und nach der 100 minütigen „steady-state“ Perfusion (postperf.), (n = 17)

Um den Einfluss von warmer und kalter Ischämiedauer (vgl. Material u. Methoden, Fragestellung), der Konservierungslösung und der Perfusion zu dokumentieren, wurde das Nierengewicht zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten (nativ, prä- und postperfusionem) ermittelt. Dabei betrug der MW für das native Nierengewicht (am Ende der warmen Ischämiedauer)  $187 \pm 39$  g, präperfusionem  $250 \pm 55$  g (Zeit vor Anschluss der Niere an das Perfusionssystem, am Ende der kalten Ischämiedauer) und postperfusionem (am Ende der durchschnittlichen 2 h dauernden Perfusion)  $329 \pm 83$  g. Prozentual ergab sich eine deutliche Zunahme des Nierengewichtes von nativ zu präperfusionem um 34 % und von nativ zu postperfusionem um 76 % (vgl. Tabelle 38 und Abbildung 18).

### 3.4 Hämodynamik der isoliert perfundierten Schlachthausniere

#### 3.4.1 Arteriell-renaler Perfusionsdruck

In Tabelle 39 ist der arteriell-renale Perfusionsdruck (ARP) zu den Sammelperioden 20 min, 40 min, 60 min, 80 min und 100 min wiedergegeben. Der angestrebte ARP von 100 mmHg wurde annähernd zu jeder Sammelperiode erreicht. Der ARP betrug nach 20 min, dem sog. steady-state, im Mittel  $105 \pm 9$  mmHg und nach 100 min  $98 \pm 7$  mmHg. Abbildung 19 zeigt eine geringfügige Abnahme des ARP zur Sammelperiode 100 min.



**Abbildung 19:** Arteriell-renaler Perfusionsdruck (ARP) zu den Perfusionszeitpunkten 20 - 100 min, Niere im steady-state, (n = 17)

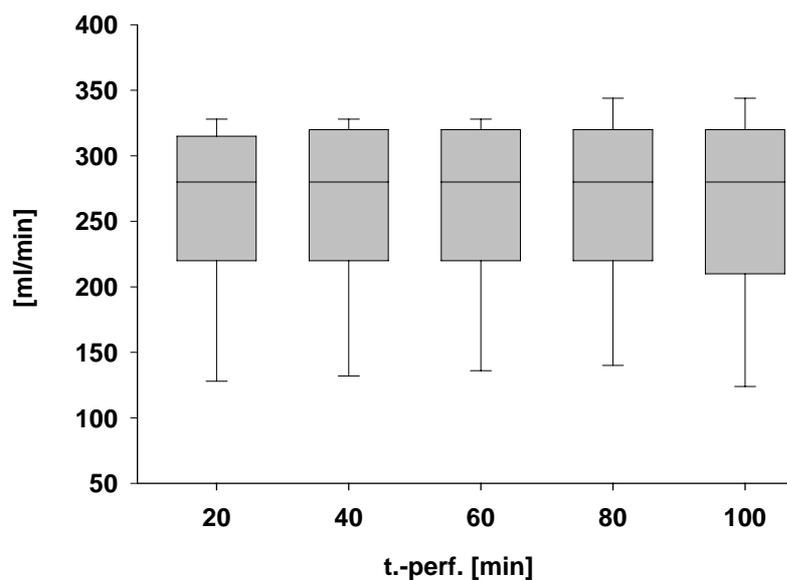
### 3.4.2 Renal-venöser Druck

Zu den „steady-state“ Perfusionszeitpunkten 20 - 100 min betrug der RVD im Mittel  $8 \pm 3,5$  mmHg (vgl. Tabelle 40). Bei den Niere Nr. 254, 258 und 260 wurde ein mittlerer RVD zwischen 12,4 mmHg und 16,8 mmHg gemessen (Gewichtszunahme  $> 30\%$ ; Gruppe II).

**Renal-venöser Druck in Abhängigkeit des Nierengewichtes (NG)** (Gruppe I mit Nierengewichtszunahme postperfusionem  $< 30\%$ , ( $n = 11$ ) vs. Gruppe II, mit Nierengewichtszunahme postperfusionem  $> 30\%$ , ( $n = 6$ ). Aus den unterschiedlichen Nierengewichten der Gruppe I vs. II zu den verschiedenen Perfusionszeitpunkten ergaben sich keine statistisch signifikanten Auswirkungen auf das RVD.

### 3.4.3 Perfusionsfluss

Initial wurde die Perfusions vor Erreichen des „steady-state“ mit einem Perfusionsfluss ( $Q_B$ ) von 10 ml/min angefahren. In der 100minütigen „steady-state“ Phase betrug der Median des  $Q_B$  280 und war im Vergleich der einzelnen Perfusionszeitpunkte von 20 - 100 min nicht signifikant unterschiedlich. Der  $Q_B$  ermöglichte einen konstanten ARP von 100 mmHg. Bei den Nieren Nr. 260 und 261 musste der  $Q_B$  angepasst werden (vgl. Tabelle 43).

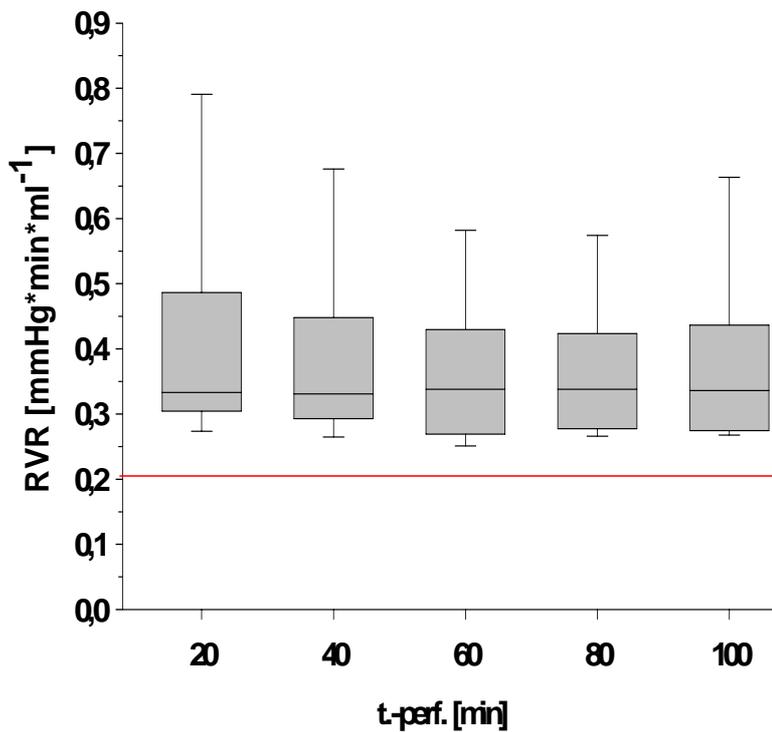


**Abbildung 20:** Perfusionsfluss ( $Q_B$ ) zu den „steady state“ Perfusionszeitpunkten 20 - 100 min, Niere im steady-state, ( $n = 17$ )

### 3.4.4 Renaler Gefäßwiderstand

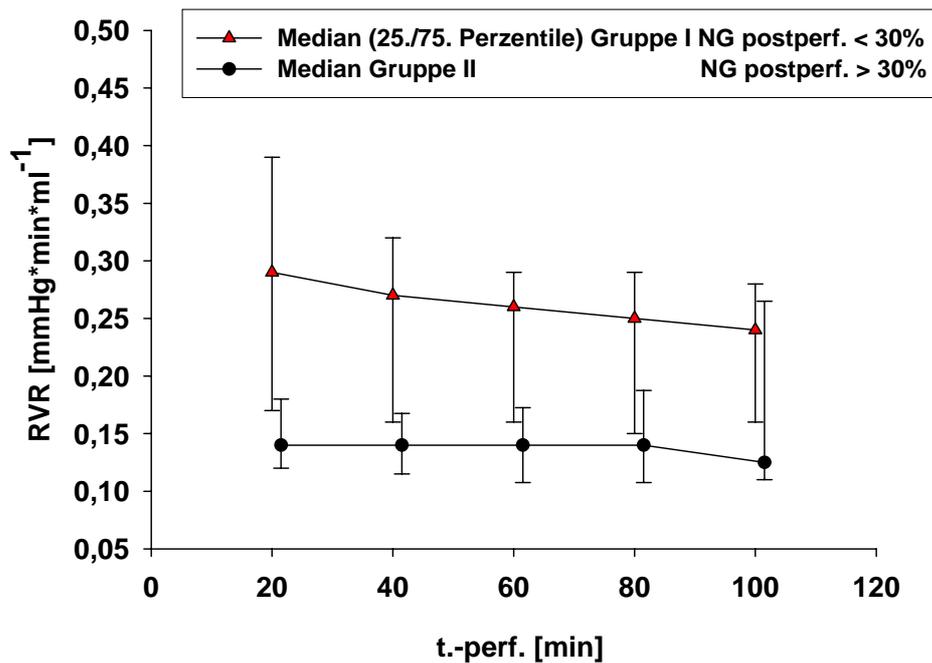
Im Vergleich zu dem von Hannon et al. 1990 angegeben in-vivo Normalwerten zeigten die Nieren über die Dauer der steady-state Perfusion einen erhöhten bzw. erniedrigten renalen Gefäßwiderstand (RVR). Nach 20 min „steady-state“ Perfusion betrug der mittlere RVR für alle 17 Nieren  $0,24 \pm 0,11 \text{ mmHg} * \text{min ml}^{-1} * 100\text{g Nierengewicht (NG)}$ . Nach 60 minütiger „steady-state“ Perfusion sank der Widerstand auf einen MW von  $0,20 \pm 0,07 \text{ mmHg} * \text{min ml}^{-1} * 100\text{g NG}$ . Nach 100 min zeigte sich eine Widerstandserhöhung einzelner Nieren. Der RVR betrug im Median  $0,33 - 0,34 \pm 0,09 \text{ mmHg} * \text{min ml}^{-1}$ .

In Tabelle 45 ist die große Streuung der Werte zu den fünf „steady-state“ Sammelperioden dargestellt. Die Nieren Nr. 243, 261, 266, 272, 273, 277 und 280 zeigten einen deutlich erhöhten RVR. Dieser lag über dem in der Literatur angegebenen Widerstand von  $0,2 \text{ mmHg} * \text{min ml}^{-1}$  (vgl. Abbildung 21). Diese Nieren reagierten initial auch mit einer Vasokonstriktion, die aber im weiteren Perfusionsverlauf abnahm. Bei der Niere Nr. 260 (vgl. Tabelle 45) erhöhte sich der Widerstand zum Ende der Perfusion von  $0,33$  auf  $0,80 \text{ mmHg} * \text{min ml}^{-1}$ .



**Abbildung 21:** Renaler Gefäßwiderstand (RVR) zu den Perfusionszeitpunkten 20 - 100 min, Niere im steady-state, (n = 17). Rote Linie Normbereich: (Hannon et al. 1990)

Im statistischen Vergleich der Mediane ergab der berechnete RVR über die gesamte Perfusionsdauer keinen statistisch signifikanten Unterschied. Der RVR blieb deutlich über den der Literatur entnommenen Normwerte von  $0,2 \text{ mmHg} * \text{min ml}^{-1}$ .

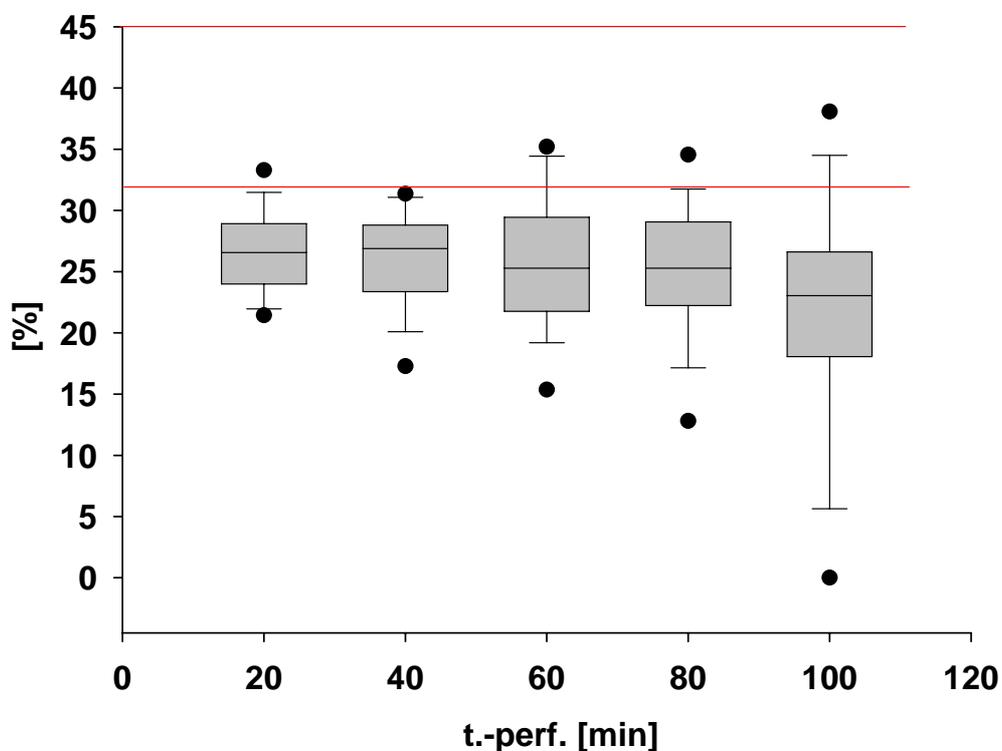


**Abbildung 22:** Renaler Gefäßwiderstand (RVR) bei Gruppe I (n = 11); Gewichtszunahme < 30 %, vs. Gruppe II (n = 6); Gewichtszunahme > 30 %, prä- zu post-perfusionem; Median (25. und 75. Perzentile)

Die Nieren der Gruppe I zeigten im Median über die gesamte Perfusion einen signifikant höheren RVR als die Nieren der Gruppe II (\* p = 0,008).

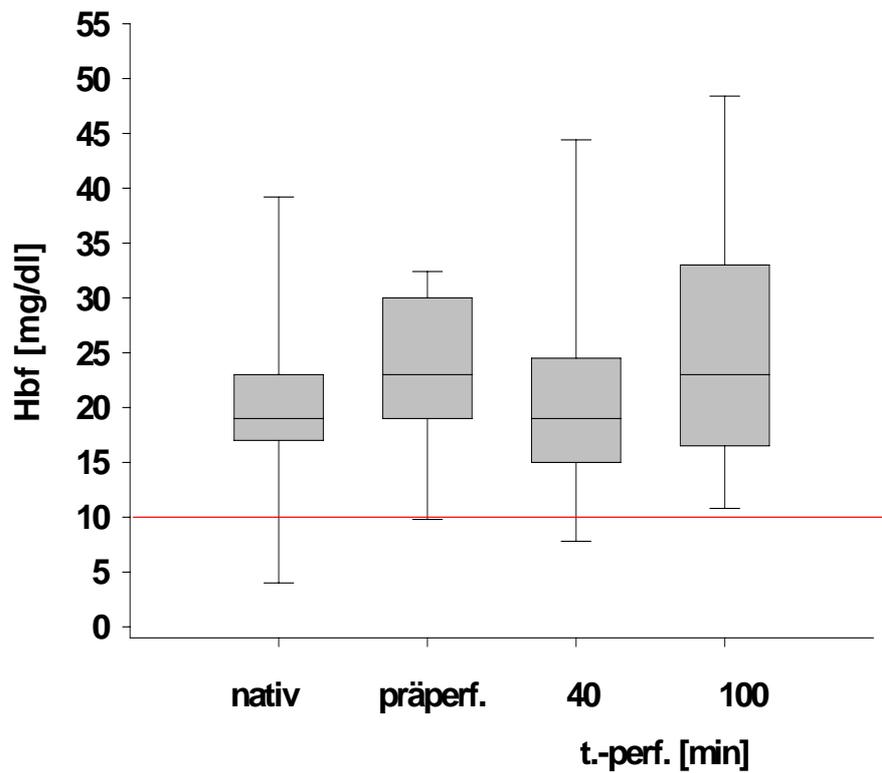
### 3.4.5 Hämatokrit

Der Hämatokrit (HKT) der Nieren war im Median über die gesamte Perfusionsdauer konstant, nahm aber bei einzelnen Nieren im Verlauf der Perfusion deutlich zu bzw. ab. Zum Ende der Perfusion nach 100 min war die prozentuale Schwankungsbreite der HKT-Werte durch einzelne Ausreißer größer als zwischen der 20. min und 80. min der steady-state Perfusion, jedoch ergab sich statistisch kein signifikanter Unterschied. Über den gesamten Perfusionsverlauf war für den HKT keine signifikanten Unterschiede im Vergleich der einzelnen Zeitpunkte darstellbar (vgl. Tabelle 48).



**Abbildung 23:** Hämatokrit (HKT) zu den Perfusionszeitpunkten 20 - 100 min, Niere im steady-state, (n = 17). Rote Linie: Normbereiche beim Schwein (Knickel et al. 1996)

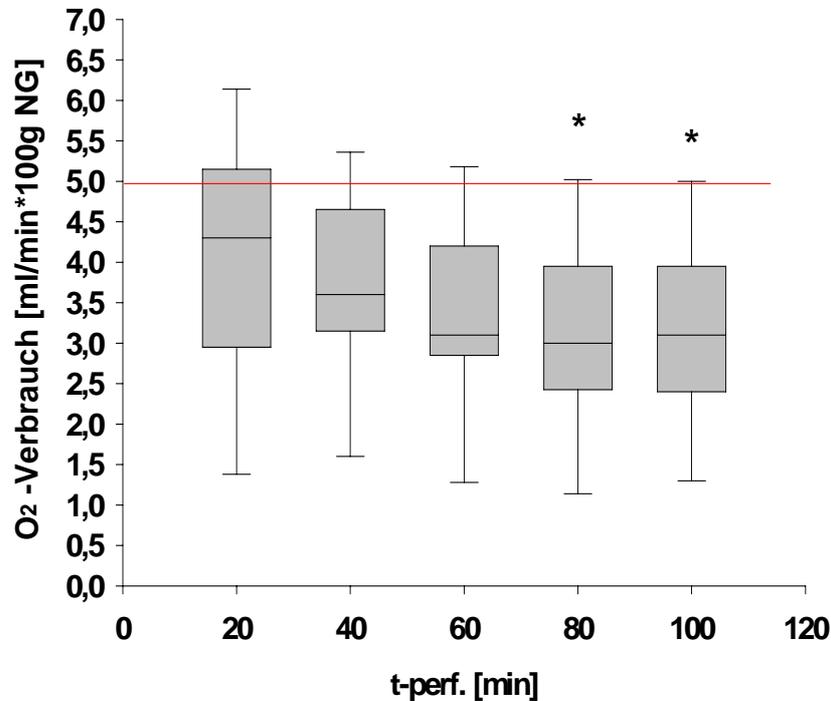
### 3.4.6 Freies Hämoglobin im Plasma



**Abbildung 24:** Freies Hämoglobin im Plasma (fHb) nativ, präperfusionem, Niere zu den Perfusionzeitpunkten 40 min und 100 min im steady-state, (n = 17).  
Rote Linie: Normbereich Hbf im Plasma beim Menschen (Lehrbücher der Physiologie)

### 3.5 Nierenfunktionsparameter der isoliert perfundierten Schlachthausniere

#### 3.5.1 Sauerstoffverbrauch



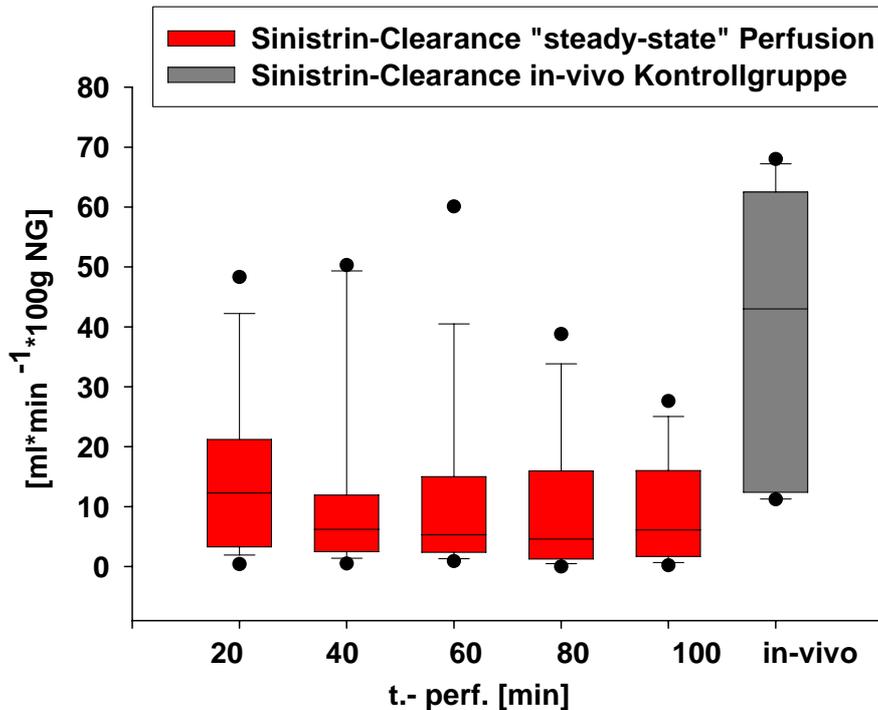
**Abbildung 25:** Sauerstoffverbrauch der Nieren zu den Perfusionzeitpunkten 20 - 100 min, Niere im steady-state; (n = 17). Statistischer Vergleich der Zeitpunkte 20 und 40 min vs. 60 - 100 min (\* p = 0,001). Rote Linie Normbereich Hausschwein (Kolb et al. 1985)

Die Abbildung 25 zeigt den Sauerstoffverbrauch berechnet auf 100 g Nierengewicht. Im Vergleich zu t.-perf. = 20 min und 40 min mit Median-Werten von 4,1 und 3,8 ml/min<sup>-1</sup> \* 100 g NG war nach 60, 80 und 100 min der Sauerstoffverbrauch der Nieren mit Median-Werten von 3,0 bis 3,3 ml/min<sup>-1</sup> \* 100 g NG bis zum Ende der Perfusion signifikant niedriger (\* p = 0,001).

Es bestand kein signifikanter Unterschied im Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom Nierengewicht zwischen Nieren der Gruppe I (n = 11) Gewichtszunahme < 30 % vs. Gruppe II (n = 6) Gewichtszunahme > 30 %. Die Nieren Nr. 243, 254, 260, 276, 277 und 280 zeigten einen, bezogen auf den Normwert, annähernd „physiologischen“ Sauerstoffverbrauch zwischen 5,1 - 7,5 ml/min<sup>-1</sup> \* 100 g NG. Der Sauerstoffverbrauch fiel bei den Nieren 243, 254, 260 und

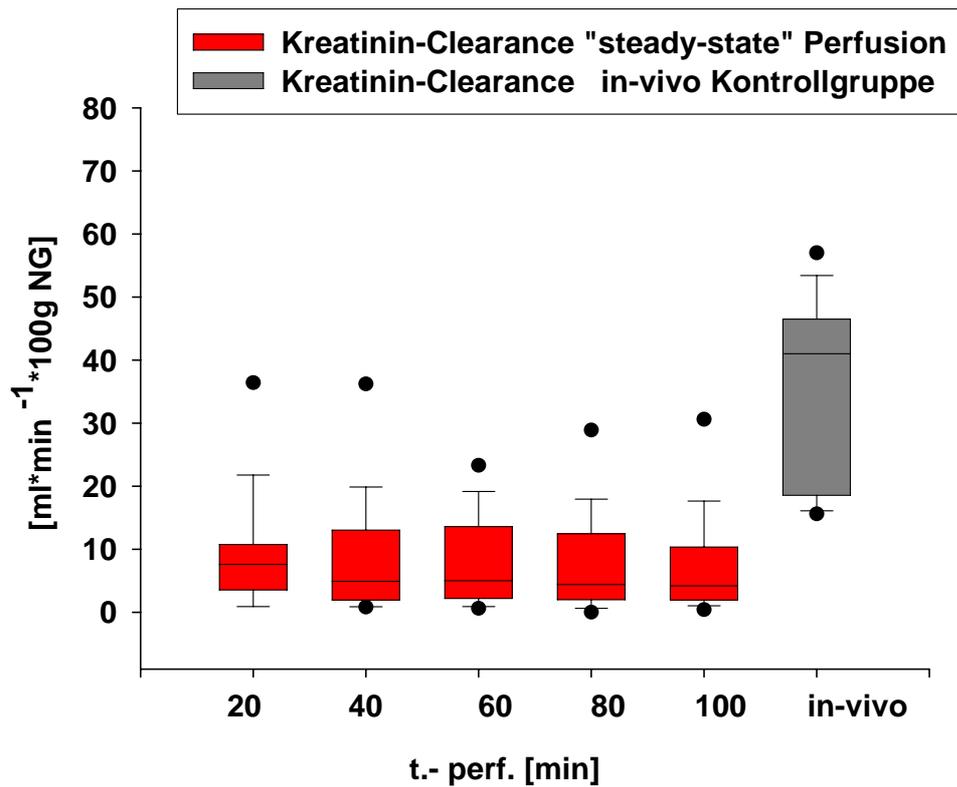
280 im weiteren Verlauf zwischen der 40 - 100 min der Perfusion ab (vgl. Tabelle 34). Bei den Nieren 276 und 277 blieb über die gesamte Perfusionsdauer der Sauerstoffverbrauch zwischen 4,9 - 6,8 ml/min<sup>-1</sup> \* 100 g NG im Vergleich zu den übrigen Nieren konstant hoch.

### 3.5.2 Glomeruläre Filtrationsrate von Kreatinin und Sinistrin®

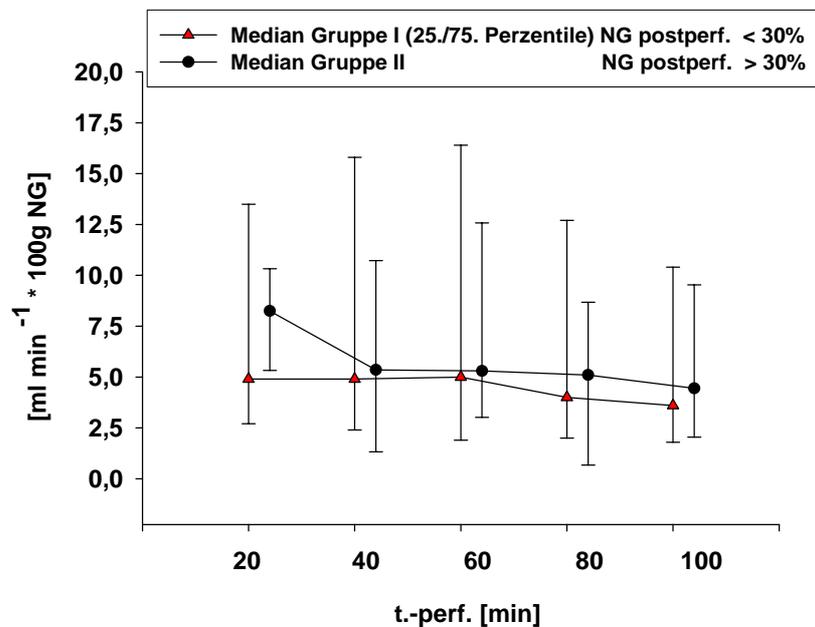


**Abbildung 26:** Sinistrin®-Clearance (n = 17) zu den „steady-state“ Perfusionszeitpunkten 20 – 100 min im Vergleich zu einer in-vivo Kontrollgruppe (n = 6)

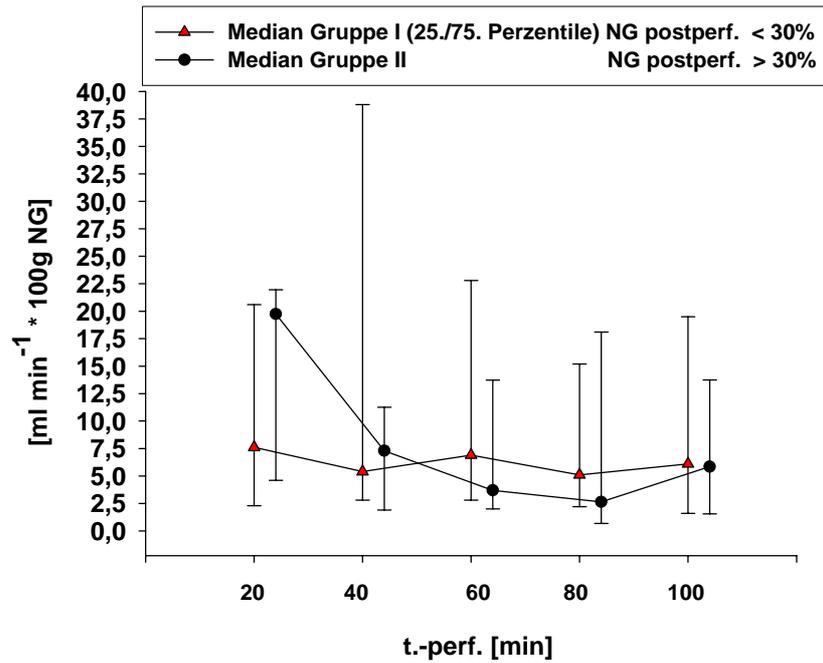
Die GFR (geschätzt als Kreatinin-, Sinistrin®-Clearance) blieb über den Untersuchungszeitraum der Sammelperioden deutlich unterhalb der Normalwerte. Im Median betrug sie für Kreatinin 7,6 (Sammelperiode: 20 min), 4,9 (40min), 5 (60 min), 4,4 (80min) und 4,2 (100min) ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG. Für Sinistrin® betrug sie 14 (Sammelperiode: 20 min), 8 (40 min), 8,5 (60 min) 7,3 (80 min) und 6,1 (100 min) ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG. Eine Niere erreichte (# 243) mit einer GFR von 23,3 - 36,4 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG den Bereich der Normalwerte. Die Nieren # 253, 259, 261, 265 und 266 zeigten im Vergleich zu den übrigen Nieren mit einer Schwankungsbreite zwischen 10 - 18 ml min<sup>-1</sup> \* 100g NG eine deutlich reduzierte GFR, die aber im Vergleich zu den anderen Nieren doppelt so hoch und über die gesamte Perfusion nahezu konstant war (vgl. Tabelle 22 und 25).



**Abbildung 27:** Kreatinin-Clearance (n = 17) zu den „steady-state“ Perfusionszeitpunkten 20-100 min vs. in-vivo Kontrollgruppe (n = 6)



**Abbildung 28:** Kreatinin-Clearance in Abhängigkeit vom Nierengewicht (Gruppe I mit Gewichtszunahme < 30 % (n = 11) vs. Gruppe II mit Gewichtszunahme > 30 % (n = 6))

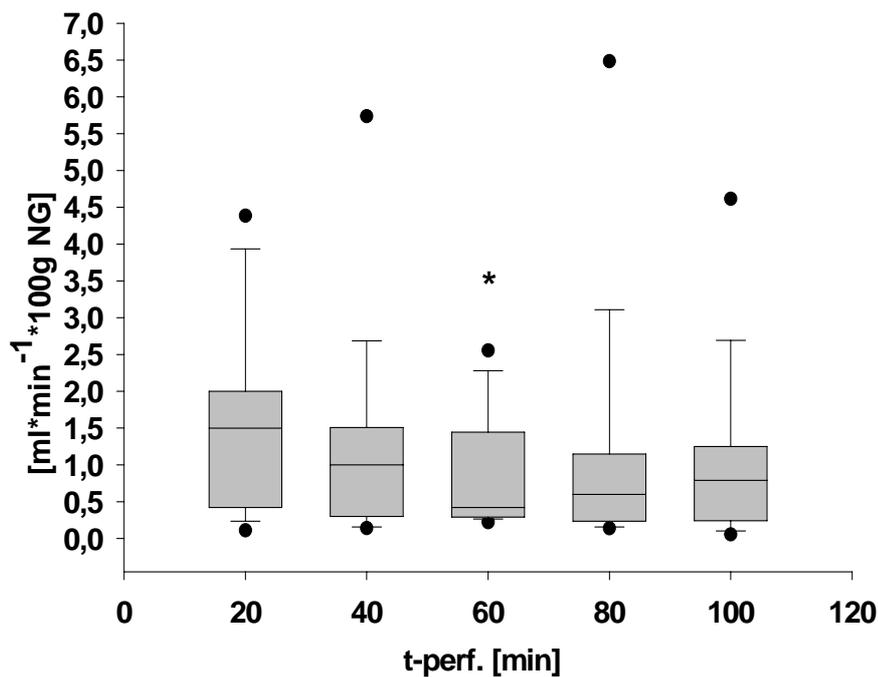


**Abbildung 29:** Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance in Abhängigkeit vom Nierengewicht (Gruppe I, mit Gewichtszunahme < 30 % (n = 11) vs. Gruppe II, mit Gewichtszunahme > 30 % (n = 6))

Die Nieren der Gruppe I zeigen im Median (25. und 75. Perzentile) keine signifikant unterschiedliche Kreatinin-Clearance bzw. Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance verglichen mit den Nieren der Gruppe II (vgl. Abbildung 28 und Abbildung 29).

### 3.5.3 Harnvolumen

In der Anfangsphase der „steady-state“ Perfusion zeigte sich bei der Niere Nr. 243 zu den Sammelperioden 20 und 40 min ein zum weiteren Perfusionsverlauf vergleichsweise hohes Harnvolumen (UV), das aber im Perfusionsverlauf deutlich abnahm und unter den der Literatur entnommenen UV-Werten lag. Für die übrigen Nieren betrug das UV im Median zwischen 0,9 ml \* min<sup>-1</sup> \* 100g NG und 1,5 ml \* min<sup>-1</sup> \* 100g NG (vgl. Tabelle 52).



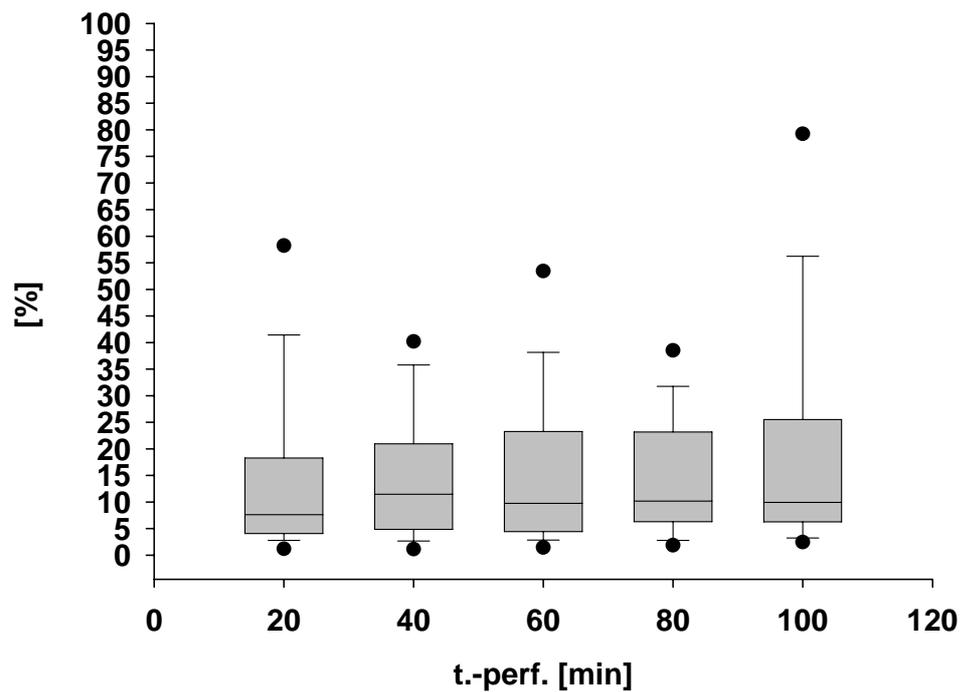
**Abbildung 30:** Harnvolumen (UV) zu den Perfusionszeitpunkten 20 - 100 min, Niere im steady-state (n = 17); (\* p = 0,03)

Im Vergleich der „steady-state“ Perfusionszeitpunkte zeigte sich lediglich in der 60 min ein signifikant niedriger UV-Wert als zu den übrigen Perfusionszeitpunkten (\* p = 0,03), die aber verglichen mit denen der Literatur entnommenen Werte insgesamt deutlich niedriger lagen.

Eine statistisch signifikante Abhängigkeit des UV vom Nierengewicht konnte nicht gezeigt werden (Gruppe I mit Gewichtszunahme < 30 % (n = 11) vs. Gruppe II mit Gewichtszunahme > 30% (n = 6); (p = 0,05).

### 3.5.4 Filtrationsfraktion

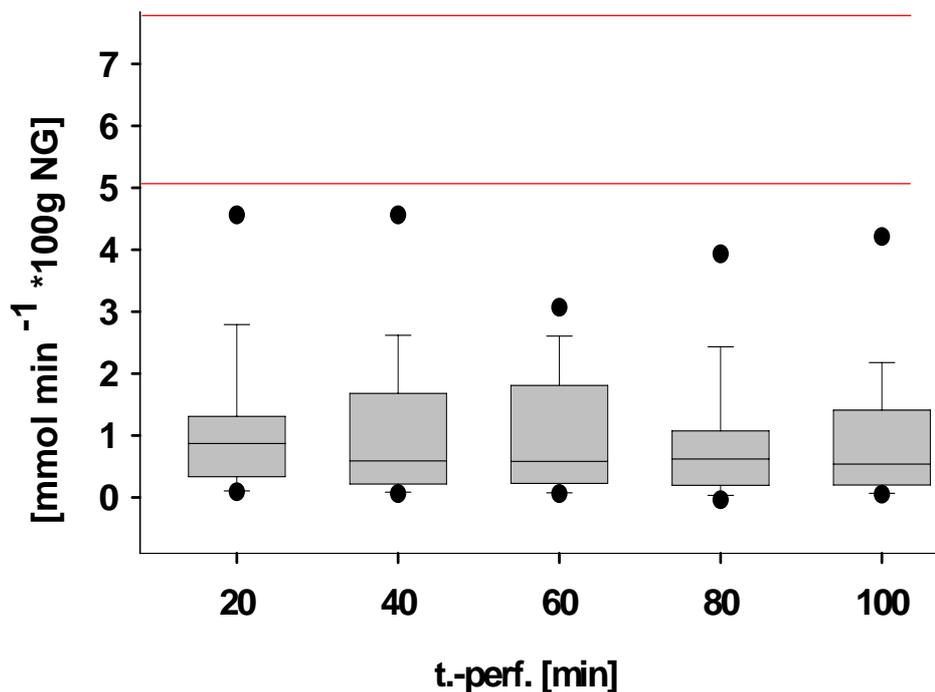
Die Filtrationsfraktion (FF) betrug zu Beginn der „steady-state“ Perfusion nach 20 min im Median 7,6 % und zum Perfusionsende nach 100 min im Median 10,5 %. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der FF zwischen den Perfusionszeitpunkten t.-perf. = 20, 40, 60, 80 und 100 min (vgl. Tabelle 49).



**Abbildung 31:** Filtrationsfraktion bezogen auf 100 g NG zu den "steady-state" Perfusionszeitpunkten t.-perf. = 20 - 100 min, Niere im steady-state (n = 17)

### 3.5.5 Tubuläre Natrium-Rückresorption

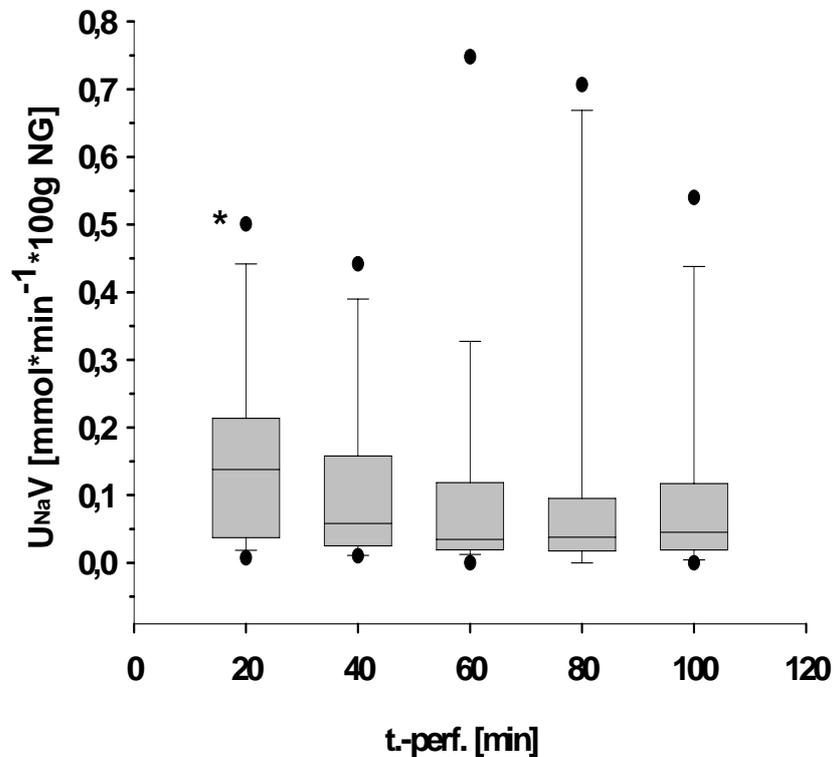
Die tubuläre Natrium-Rückresorption blieb über die gesamte Dauer der „steady-state“ Perfusion deutlich unter den in der Literatur angegebenen Normwerten, vereinzelt wurden für die tubuläre Natrium-Rückresorption Werte von  $4,5 \text{ mmol min}^{-1} * 100\text{g Nierengewicht}$  erreicht.



**Abbildung 32:** Tubuläre Natrium-Rückresorption zu den "steady-state" Perfusionzeitpunkten t.-perf.= 20 - 100 min, (n = 17). Rote Linien Normbereiche (Hannon et al. 1990)

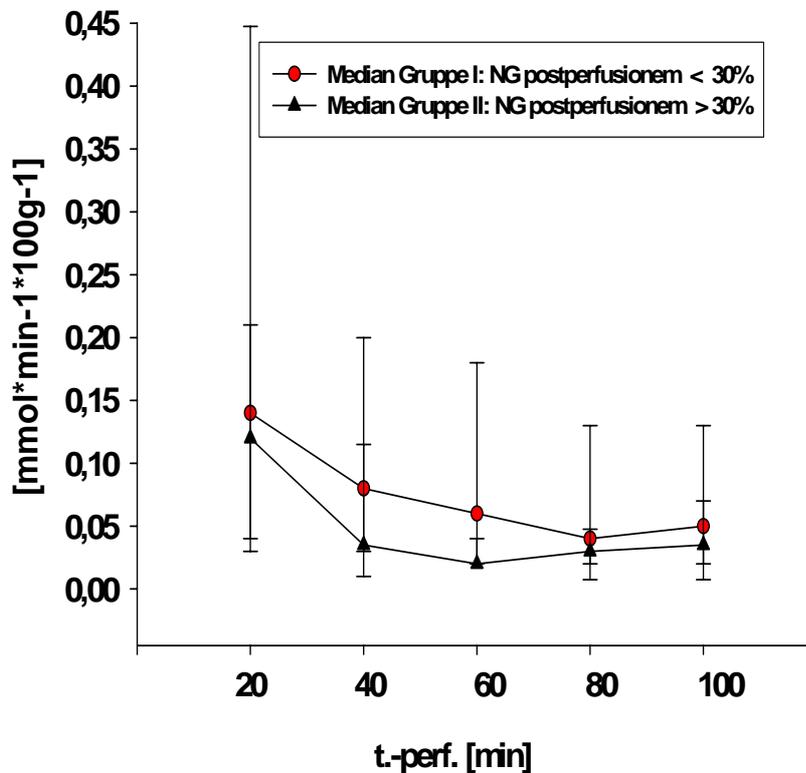
Die Mehrzahl der Nieren unterschritt im Median mit Werten zwischen  $0,5 - 0,9 \text{ mmol min}^{-1} * 100\text{g NG}$  für die tubuläre Natrium-Rückresorption deutlich die für Schweinenieren in der Literatur angegebenen Normwerte. Vereinzelt, wie bei Niere Nr.243, wurden Werte zwischen  $3,1 - 4,6 \text{ mmol min}^{-1} * 100\text{g NG}$  (Sammelperiode 20 min, 40 min, vgl. Tabelle 31) im unteren Bereich der Normwerte für die tubuläre Natrium-Rückresorption erreicht. Im direkten Vergleich der einzelnen Messpunkte der „steady-state“ Perfusion zeigten sich im Median keine statistischen Unterschiede. Die tubuläre Natrium-Rückresorption der Gruppe I war von der Gruppe II nicht verschieden.

### 3.5.6 Natrium-Exkretion



**Abbildung 33:** Tubuläre Natrium-Exkretion ( $U_{NaV}$ ) zu den Perfusionszeitpunkten t.-perf. = 20 - 100 min, Niere im steady-state, (n = 17)

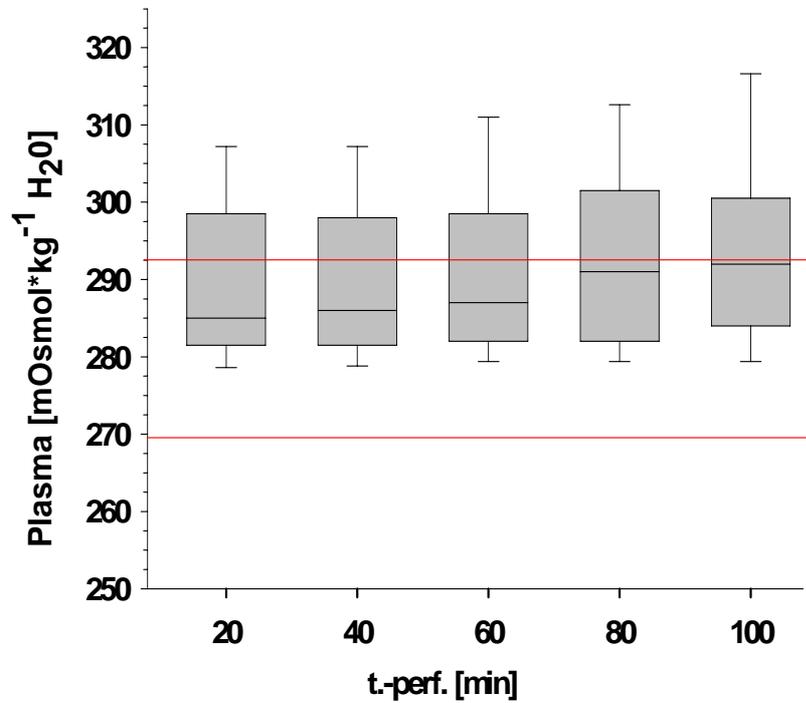
Die  $U_{NaV}$  verringerte sich im Median in der Sammelperiode 20 - 60 min von 0,14 auf 0,03  $\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100\text{g NG}$  und änderte sich nicht signifikant bis zum Ende der Perfusion (vgl. Tabelle 28). Im Vergleich der Perfusionszeitpunkte t.-perf. = 20 min vs. 40, 60, 80 und 100 min zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied (\*  $p = 0,03$ ).



**Abbildung 34:** Tubuläre Natrium-Exkretion ( $U_{NaV}$ ) zu den Perfusionzeitpunkten t.-perf. = 20 - 100 min der Gruppe I (n = 11) vs. II (n = 6) in Abhängigkeit von dem Nierengewicht postperfusionem

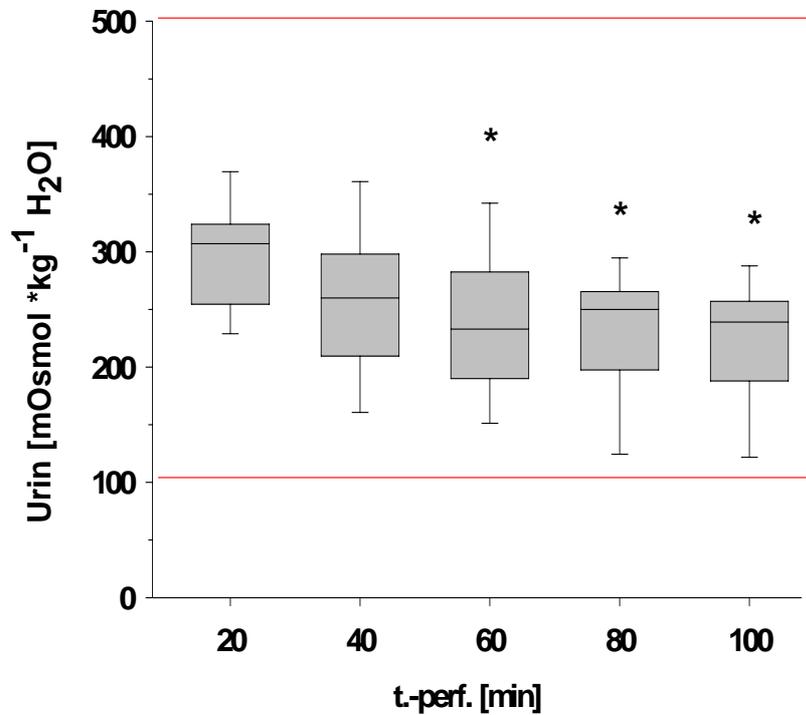
In der Gruppe I zeigte sich im Median im Vergleich zu der Gruppe II ein signifikanter Abfall der  $U_{NaV}$  zu den einzelnen Perfusionszeitpunkte (Sammelperiode 20 - 40 min, vgl. Tab. 28 und 29). Gruppe I wies mit einem konstanten Median im Bereich von 0,1 - 0,2  $\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100\text{g NG}$  signifikant höhere  $U_{NaV}$ -Werte auf, als Gruppe II mit 0,03 - 0,04  $\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100\text{g NG}$  (Sammelperiode 60 - 100 min, vgl. Tabelle 28, 29).

### 3.5.7 Osmolalität im Plasma



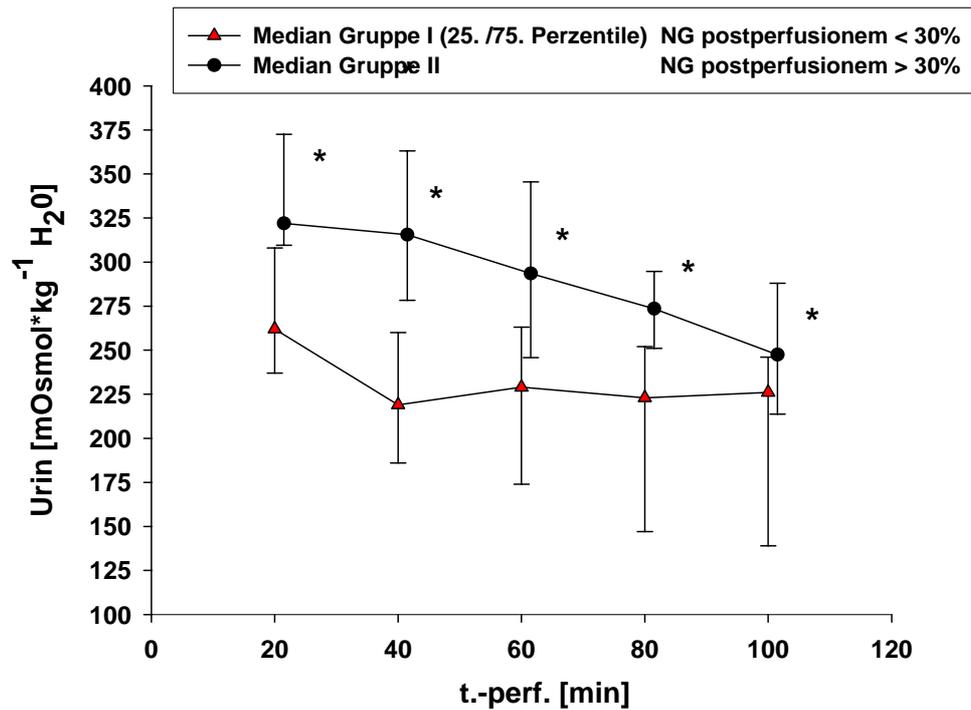
**Abbildung 35:** Osmolalität im Plasma zu den Perfusionzeitpunkten t.-perf. = 20 - 100 min, Niere im steady-state, (n = 17). Rote Linien Normbereiche (Hannon et al. 1990, Waldmann et al. 1991)

### 3.5.8 Osmolalität im Urin



**Abbildung 36:** Osmolalität im Urin zu den Perfusionzeitpunkten t.-perf. = 20 -100 min, Niere im steady-state, (n = 17). Statistischer Vergleich Osmolalitäten 20 vs. 60 min, 80 und 100 min (\* p = 0,05). Rote Linien Normbereiche (Hannon et al. 1990, Waldmann et al. 1991)

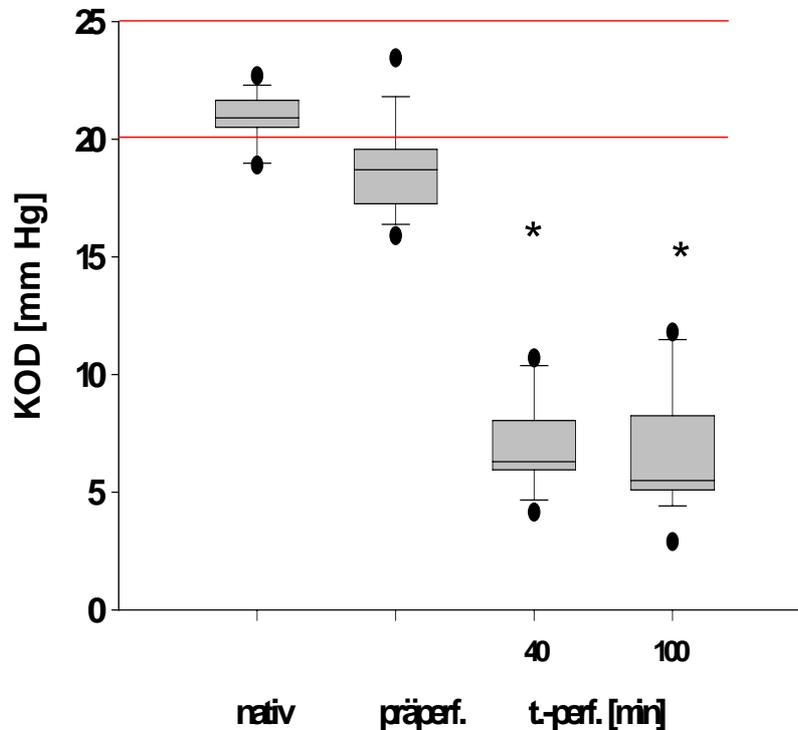
Die Urinosmolalität war zu den „steady-state“ Perfusionszeitpunkten 60, 80 und 100 min signifikant kleiner als zu Beginn der Perfusion bei t.-perf. = 20 min (\* p = 0,05). Es zeigte sich im Perfusionsverlauf eine Abnahme der Osmolalität im Urin im Median von 307 auf 239 mOsmol \* kg<sup>-1</sup> \* H<sub>2</sub>O.



**Abbildung 37:** Osmolalität im Urin in Abhängigkeit des Nierengewichtes (Gruppe I mit Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 % (n = 11) vs. Gruppe II mit Gewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %) (n = 6);  
\* p = 0,0004

Im Median (25. und 75. Perzentile) zeigte sich in Abhängigkeit vom NG postperfusionem in Gruppe II im Vergleich zur Gruppe I über den gesamten Verlauf eine statistisch signifikant höhere Osmolalität (p = 0,0004), die kontinuierlich von 339 (t.-perf. = 20 min) auf 250 mOsmol \* kg<sup>-1</sup> \* H<sub>2</sub>O (t.-perf. = 100 min) geringer wurde. In Gruppe I verringerte sich die Osmolalität von 272 (t.-perf. = 20 min) auf 201 (t.-perf. = 100 min) mOsmol \* kg<sup>-1</sup> \* H<sub>2</sub>O.

### 3.5.9 Kolloidosmotischer Druck im Plasma

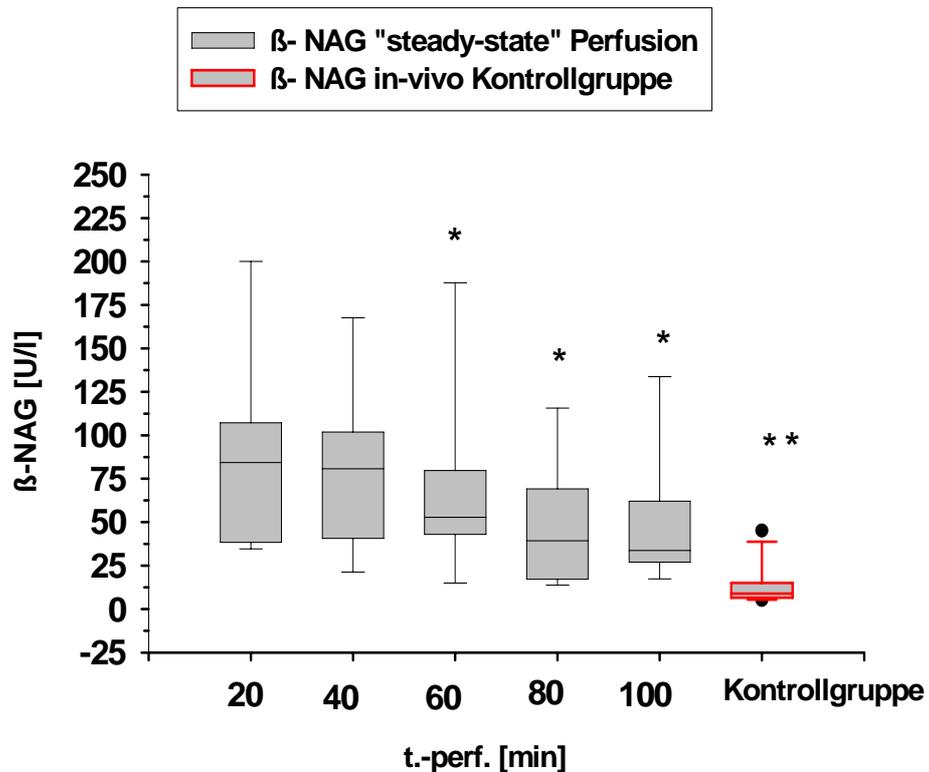


**Abbildung 38:** KOD im Plasma nativ, präperfusionem und zu den steady-state Perfusionzeitpunkten t.-perf. = 40 min und 100 min, (n = 17).  
Rote Linien Normbereiche: (Rick et al. 1977)

Während der „steady-state“ Perfusion zu den Zeitpunkten 40 min und 100 min war der Kolloidosmotische Druck (KOD) signifikanter niedriger als in der Nativprobe unmittelbar nach dem Schlachtvorgang und in der A<sub>1</sub>-Probe, also unmittelbar vor Anschluss der Niere an die Perfusionsapparatur (\* p = 0,001). Zwischen t.-perf. = 40 min und 100 min änderte sich der KOD nicht signifikant. Die KOD-Werte blieben deutlich unterhalb der Normwerte.

Im Vergleich des KOD in Abhängigkeit von der Gewichtszunahme prä- zu postperfusionem Gruppe I (< 30 %) vs. II (> 30 %) ergab sich kein signifikanter Unterschied (p = 0,78).

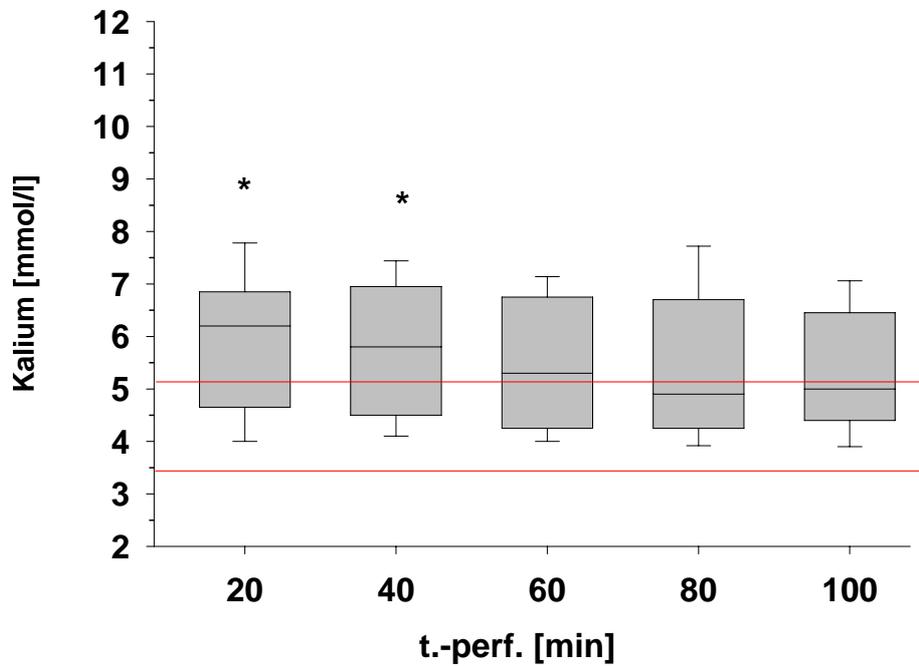
### 3.5.10 Tubuläres $\beta$ -NAG



**Abbildung 39:** Tubuläres  $\beta$ -NAG im Urin in  $U\ l^{-1}$  zu den "steady-state" Perfusionszeitpunkten t.-perf. = 20 - 100 min (n = 14) vs. einer in-vivo Kontrollgruppe (n = 6)

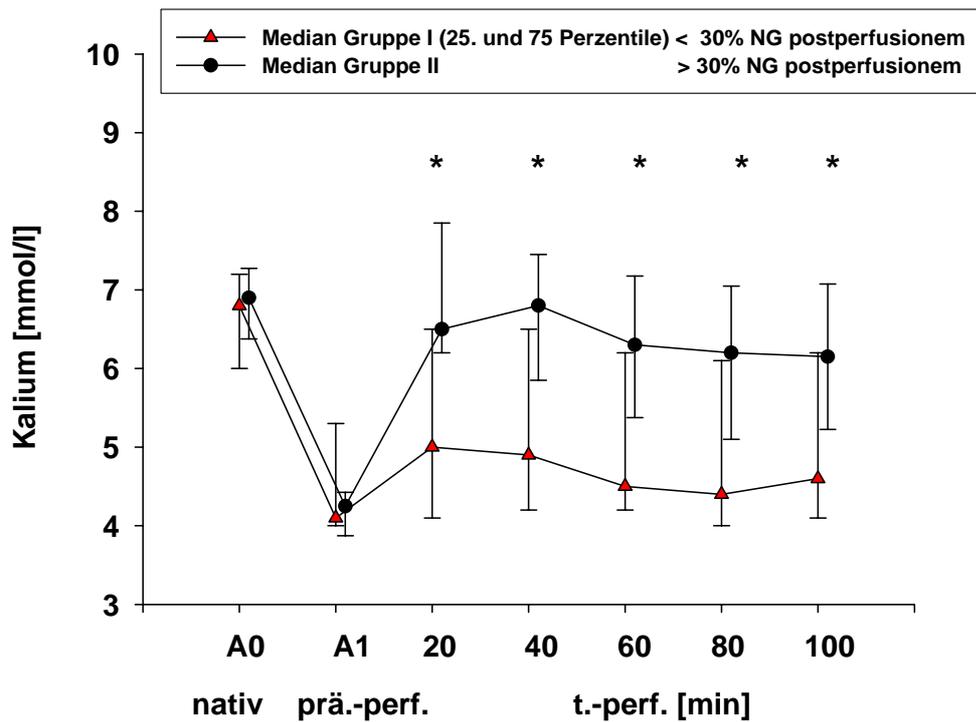
In der „steady-state“ Perfusion (t.-perf. = 20 - 100 min) zeigte sich im Vergleich zur in-vivo Kontrollgruppe ein signifikant höherer  $\beta$ -NAG Wert (\*\* p = 0,001). Im Vergleich der Perfusionszeitpunkte t.-perf. = 20 min, 40 min vs. 60 min, 80 min und 100 min ergab sich bei den drei letzten Perfusionszeitpunkten eine signifikant niedrigere Freisetzung des tubulären  $\beta$ -NAG (\* p = 0,02). Im Vergleich des  $\beta$ -NAG Anstiegs in Abhängigkeit von der Gewichtszunahme prä- zu postperfusionem der Gruppe I (< 30 %) vs. II (> 30 %) zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Freisetzung des  $\beta$ -NAG.

### 3.5.11 Kaliumkonzentration im Plasma



**Abbildung 40:** Kaliumkonzentration im Plasma zu den Perfusionszeitpunkten t.-perf. = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“ (n = 17). Rote Linien Normbereiche: (Hannon et al. 1990, Waldmann et al. 1991) ; \* p = 0,001

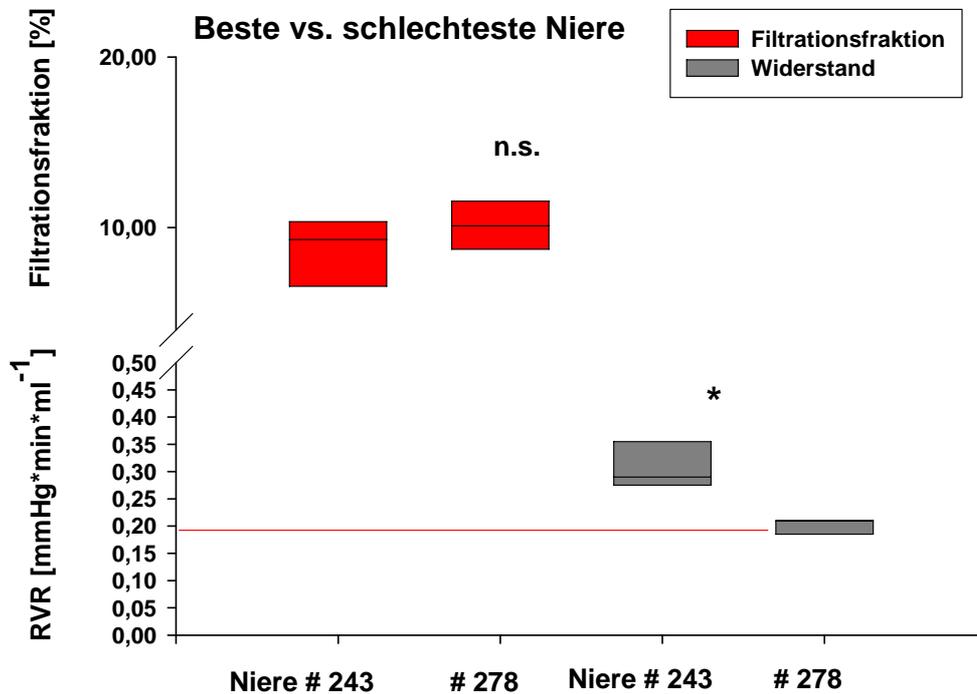
Im Vergleich der Messpunkte der „steady-state“ Perfusion bei t.-perf. = 20 und 40 min vs. 80 und 100 min betrug die Kaliumkonzentration im Median mit 6,2 mmol/l und 5,8 mmol/l zu den anfänglichen Messpunkten statistisch signifikant höher als zum Ende der Nierenperfusion (\* p = 0,001).



**Abbildung 41:** Kaliumkonzentration im Plasma in Abhängigkeit des Nierengewichtes (Gruppe I mit Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 % (n = 11) vs. Gruppe II mit Gewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %) (n = 6); \* p = 0,01

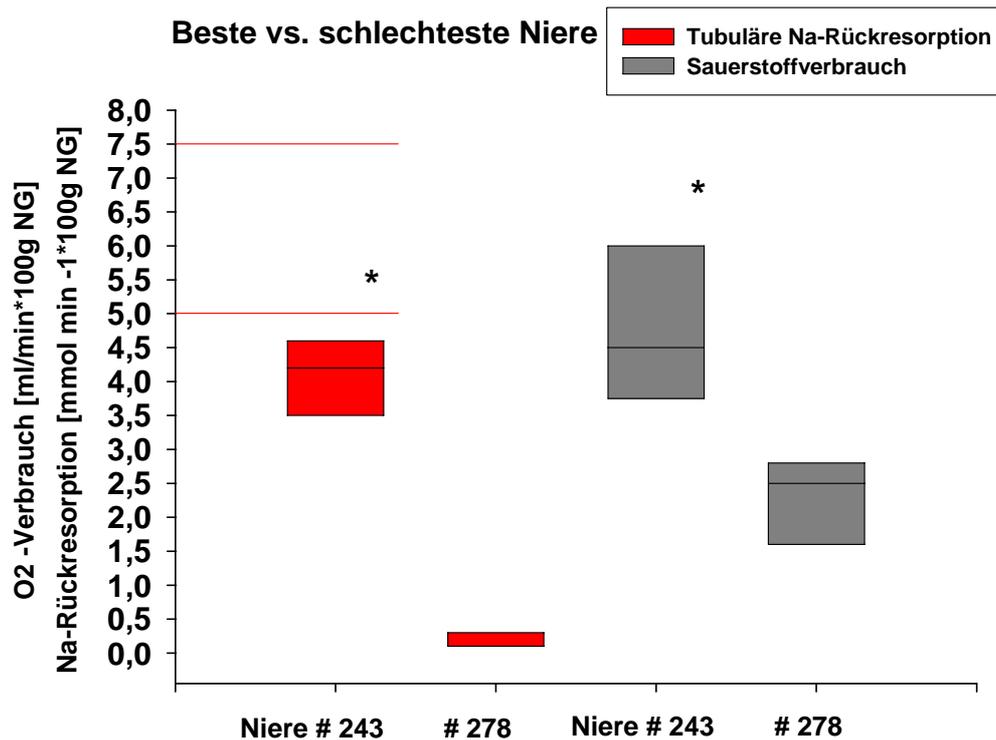
Der Vergleich der Kaliumkonzentration in Abhängigkeit von dem Nierengewichtszunahme im Perfusionsverlauf zeigte zwischen der Gruppe I verglichen mit der Gruppe II einen statistisch signifikanten Unterschied, der im gesamten Verlauf der „steady-state“ Perfusion bestehen blieb (vgl. Tabelle 56 und Tabelle 57).

### 3.6 Vergleich ausgewählter Nierenfunktionsparameter: beste versus schlechteste Niere



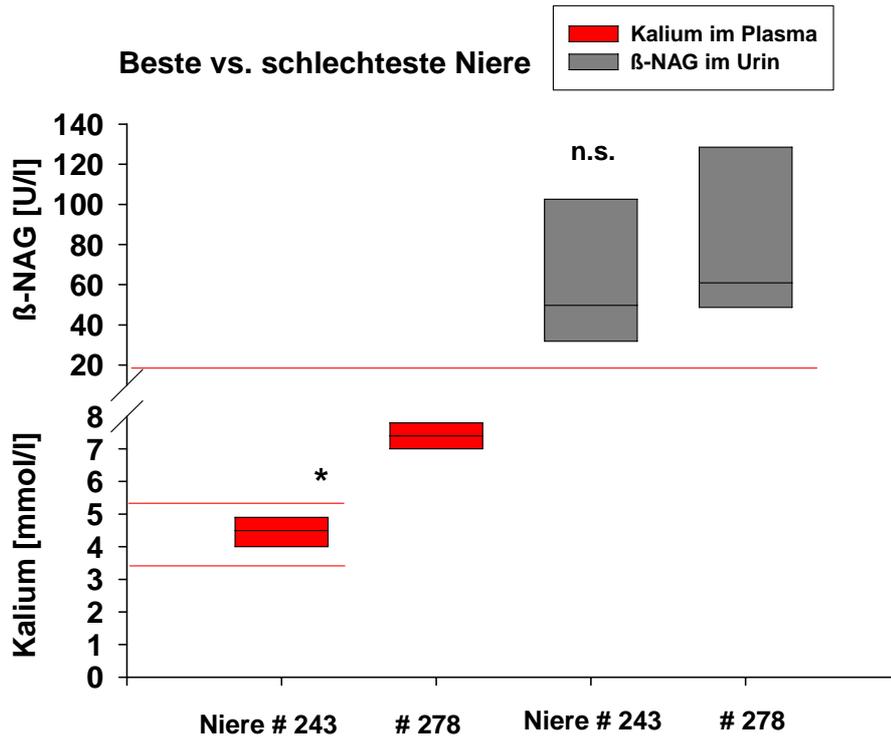
**Abbildung 42:** Vergleich der Funktionsparameter FF und RVR der „besten“ (# 243) vs. „schlechtesten“ (# 278) Schlachthofniere“; \* p = 0,001

Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der von den übrigen Funktionsparametern „besten“ und „schlechtesten“ konnte für die FF nicht gezeigt werden, obwohl der Widerstand der Niere # 243 signifikant höher war und konsekutiv eine höhere FF zu erwarten gewesen wäre. Die untere rote Linie zeigt den Normbereich für den berechneten renalen Widerstand (Hannon et al. 1990, Waldmann et al. 1991).



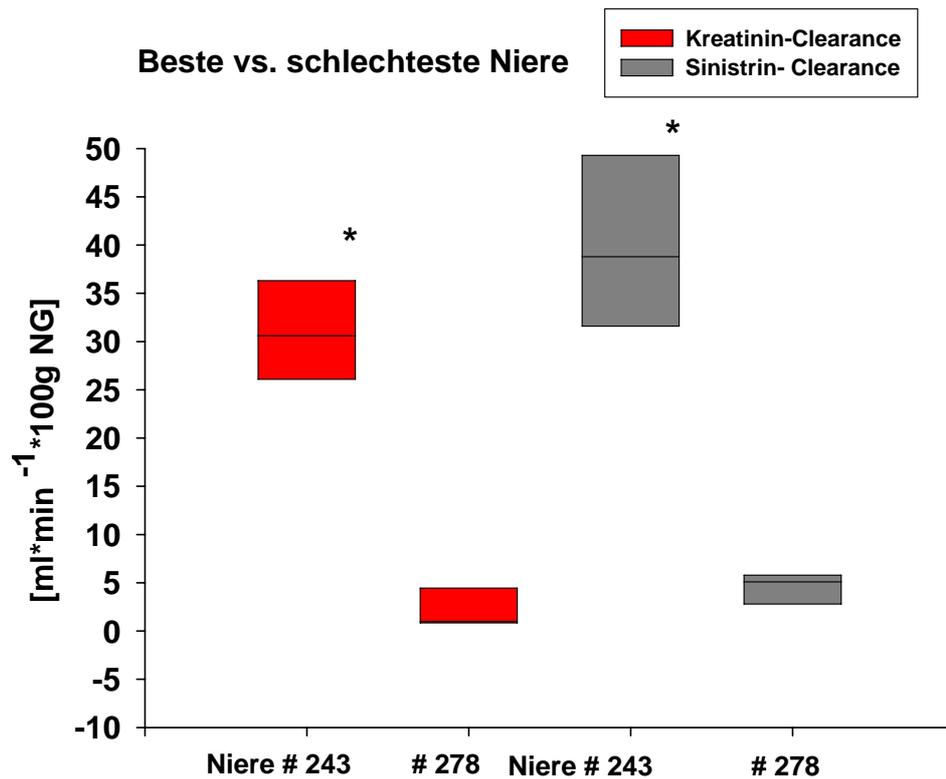
**Abbildung 43:** Vergleich der tubulären Natrium-Rückresorption und des Sauerstoffverbrauchs der „besten“ (# 243) vs. „schlechtesten“ (# 278) Schlachthofniere“; \*  $p = 0,001$

Sowohl die tubuläre Natrium-Rückresorption als auch der Sauerstoffverbrauch waren im direkten Vergleich der „besten“ vs. „schlechtesten Niere signifikant unterschiedlich (\*  $p = 0,001$ ). Die Niere # 243 war mit beiden Funktionsparametern dem unteren Referenzbereich der aus der Literatur entnommenen Werte am nächsten. Die untere rote Linie zeigt den Normbereich für den renalen Sauerstoffverbrauch, untere und obere rote Linie die Range des Normbereichs für die Natrium-Rückresorption (Hannon et al. 1990, Waldmann et al. 1991).



**Abbildung 44:** Vergleich der Konzentration von Kalium im Plasma und  $\beta$ -NAG im Urin der „besten“ (# 243) vs. „schlechtesten“ (# 278) Schlachthofniere; \*  $p = 0,001$

Statistisch ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Freisetzung des  $\beta$ -NAG im Vergleich beider Nieren. Bezogen auf Kalium zeigte die von den Funktionsparametern „beste“ Niere # 243 eine signifikant niedrigere Kaliumkonzentration im Verlauf der „steady-state“ Perfusion im Vergleich zur Niere # 278 (\*  $p = 0,001$ ).



**Abbildung 45:** Vergleich der Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance der von den berechneten Funktionsparametern „besten“ (# 243) und „schlechtesten“ (# 278) Schlachthofniere; \* p = 0,001

Sowohl die Kreatinin-, als auch die Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance war bei der Niere # 243 signifikanter höher als die Niere mit der Versuchsnummer # 278 (\* p = 0,001).

## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob die Sinistrin<sup>®</sup>- (Inulin like) und Kreatinin-Clearance methodisch gleichwertige Funktionsparameter in einem „steady-state“ Perfusionsmodell mit konstantem pH-, pO<sub>2</sub>-, pCO<sub>2</sub>-, Hämatokrit, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> und Mg<sup>+</sup> sind. Dazu wurden porcine Schlachthausnieren normotherm mit autologem Blut über 100 min isoliert perfundiert. Einige Nieren entwickelten im Versuchsverlauf ein ischämisch bedingtes, poly- und hypostenurisches akutes Nierenversagen (ANV), das anhand verschiedener Nierenfunktionsparameter wie beispielsweise der tubulären Natrium-Rückresorption nachgewiesen wurde.

Anfangs ergaben die Messungen der Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration in Plasma, Urin und Dialysat mittels der vollenzymatischen Inuquant<sup>®</sup>-Methode (Fa. Fresenius, Linz, Österreich) keine verwertbaren Ergebnisse. Einflüsse des Schlachtvorgangs und das im Verlauf der „steady-state“ Perfusion aufgetretenen ANV erforderten Änderungen der Messanleitung. Zum einen musste die Inulinase-Konzentration zur Sinistrin<sup>®</sup>-Hydrolyse erhöht werden, zum anderen wurde eine Verlängerung der Inkubationszeit und -temperatur der Plasmaproben und eine Probenzentrifugation notwendig. Nach diesen Veränderungen konnte die Sinistrin<sup>®</sup> mittels der Inuquant<sup>®</sup>-Methode photometrisch fehlerfrei bestimmt werden. Im Vergleich beider Messmethoden war die Kreatinin-Messung (Jaffé-Methode; halbautomatischer Kreatinin-Analyzer) von den Arbeitsschritten weniger aufwendig und stör anfällig als die Sinistrin<sup>®</sup>-Messung. Für die berechneten renalen Clearance zeigte sich im Perfusionsverlauf bei Sinistrin<sup>®</sup> eine breitere Streuung der Werte als bei der Kreatinin.

Die Einzelbewertung der Nierenfunktionsparameter ergab einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Nativgewicht der Nieren nach Explantation auf dem Schlachthof, der prozentualen Gewichtszunahme der Nieren nach der hypothermen Nierenkonservierung und der Gewichtszunahme im Verlauf der „steady-state“ Perfusion. Die Ergebnisse zeigen, dass ein geringes Nativgewicht und eine prozentual geringe Nierengewichtszunahme im Perfusionsverlauf bessere Nierenfunktionsparameter ergeben. Statistisch belegt wurden die Ergebnisse durch die nichtparametrische Varianzanalyse, die einen Vergleich der Nierenfunktionsparameter im Perfusionsverlauf in Abhängigkeit von der Nierengewichtszunahme erlaubt (Brunner et al 2001). Ein „cut-off“ wurde bei einer Nierengewichtszunahme von prä- zu postperfusionem > 30 % gesetzt. Dieser ergab eine Einteilung der Nieren für Gruppe I mit einer definierten Gewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 % und für Gruppe II > 30 %.

## 4.1 Methodendiskussion Organgewinnung

### 4.1.1 Einfluss des Schlachtvorgangs auf die Organgüte

Verladung, Transport, und Zuführung zum Schlachtvorgang sind eine besondere Belastung für Schweine. Wie in der Literatur beschrieben, werden unterschiedliche Stresshormone wie Katecholamine freigesetzt. Bereits die Fixation von Schweinen löst eine Aktivierung der Hypothalamo-Hypophysär-Adrenalen-Achse und des sympatho-adrenomedullären Systems aus (Usdin et al. 1976, van Loon et al. 1988). Verschiedene Autoren haben beschrieben, dass Tierverladung und -transport verglichen mit dem Ruhewert zu einer Verdreifachung des Adrenalin- und des Noradrenalinspiegels im Plasma führen (Johansson et al. 1982, DeRoeth et al. 1989). Andere Arbeitsgruppen konnten kurz vor der Kohlendioxid- oder Elektrobetäubung der Tiere Katecholaminkonzentrationen nachweisen, die verglichen mit den zu den Ruhewerten für Adrenalin bis zu 60fach und für Noradrenalin bis zu 20fach erhöht waren (Woltersdorf et al. 1988, Holzer et al. 1992, Wenzlawowicz et al. 1994, Marahrens et al. 1997). Der Schlachtvorgang der Schweine, klinisch einem hypodynamischen Schocksyndrom vergleichbar, ist der größte Katecholamin freisetzende Stressor. Stresshormone und der Blutverlust durch den Tötungsstich führen während des Schlachtvorgangs zu einem akuten Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf. Innerhalb von Sekunden kommt es zu einer Verminderung der nutritiven Durchblutung lebenswichtiger Organe wie z.B. von Niere, Leber, Herz und Gehirn (Lameire et al. 2005). Die resultierende Organhypoxie führt zu teilweise irreversiblen funktionellen und strukturellen Gewebeeränderungen der betreffenden Organe. Auf der Ebene des Gefäßsystems können verschiedene Stresshormone des Renin-Angiotensin-Aldosteron-System oder des Cortisol-Systems im Blut noch vasoaktiv sein und eine renale Vasokonstriktion während der Organperfusion auslösen. Um den Einfluss von Stresshormonen auf die renale Vasokonstriktion der isoliert perfundierten Schlachthausniere zu antagonisieren, wurde Sekunden nach Elektrobetäubung und Tötungsstich das Blut aufgefangen, heparinisiert und mit dem vasodilatierenden Calcium-Antagonisten Verapamil<sup>®</sup> versetzt. Trotz Verapamil<sup>®</sup> wurde im Verlauf der 100minütigen Perfusion ein renaler Widerstand im Median von 0,33 - 0,38 mmHg\*min ml<sup>-1</sup> berechnet, der deutlich über dem von Hannon angegebenen in-vivo Normalwert von 0,2 mmHg\*min ml<sup>-1</sup> lag (Hannon et al. 1990). Bei einzelnen Nieren betrug der Widerstand sogar zwischen 0,7 mmHg \* min ml<sup>-1</sup> und 0,8 mmHg \* min ml<sup>-1</sup>. Unterschieden werden konnte nicht, ob die im Verlauf der Perfusion berechnete renale Vasokonstriktion eine unmittelbare Folge des Schlachtvorgangs und/oder der extrakorporalen Nierenperfusion war. Vorstellbar ist, dass mittels Schlachtung freigesetzte Stresshormone sowie ischämisch liberierte Radikale zu einer Reduktion der Dilatationsreserve

des Gefäßendothels führen. Hypoxie und freie Radikale beschleunigen den Abbau des Stickstoffmonooxid (NO) synthetisierenden Schrittmacherenzym, der L-Arginin Synthetase. Weniger vasodilatierendes NO würde gebildet werden mit Schädigung der Nieren durch ein vasokonstriktorisch ausgelöstes Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und -angebot. Diese Annahme könnte das bei den perfundierten Schlachthausnieren beobachtete ANV miterklären. Ähnliches wurde in einer Veröffentlichung diskutiert, die ein ischämisch bedingtes Defizit an L-Arginin und eine endotheliale Dysfunktion infolge einer verminderten NO Synthese als Ursachen der Pathogenese eines ANV beschreibt (Schramm et al. 2002). Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, das L-Arginin zur Vermeidung ischämisch bedingter Vasokonstriktion supplementiert werden sollte. In einer anderen Perfusionsstudie wurde Endothelin als vaskonstriktorisches Mediator beschrieben (Wilhelm et al. 1999). Dabei führt Endothelin ebenfalls zu einer Verminderung der Filtrationsfläche im Glomerulum. Die konsekutive Sauerstoff- und Substratminderversorgung beschleunigt das ANV (Ren et al. 2002). Offen ist, ob Ischämie und Reperfusion in einer isoliert perfundierten Schlachthausniere noch zu einer Up-Regulation des Endothelin 1 codierenden Gens führen können.

#### **4.2 Veränderungen der Inuquant<sup>®</sup>-Methode für Sinistrin<sup>®</sup> Messungen in Plasmaproben isoliert perfundierter Nieren im ANV**

Nach aktuellem Kenntnisstand der verfügbaren Literatur liegen Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen über den methodischen Einfluss eines „steady-state“ Perfusionsmodells der Schlachthausniere im ANV auf die Inuquant<sup>®</sup>-Messmethode, die Vergleichbarkeit und den Verlauf der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance nicht vor.

Es wurde der methodische Vergleich der manuellen Sinistrin<sup>®</sup>- mit der halbautomatischen Kreatinin-Messung in Plasma- und Urinproben durchgeführt. Insgesamt wurden 55 Nieren über fünf Clearance-Zeitpunkte (20, 40, 60, 80 und 100 min) perfundiert. Bei 38 von 55 Nieren ergaben die photometrisch Sinistrin<sup>®</sup>-Messungen im Plasma ausschließlich negative Extinktionen mit denen eine Berechnung der Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentrationen nicht möglich war. Deshalb wurde in einem nächsten Schritt geprüft, ob es methodische Interferenzen zwischen der Sinistrin<sup>®</sup>-Messung mittels der vollenzymatischen Inuquant<sup>®</sup>-Methode (Fa. Fresenius, Linz, Österreich) und dem Perfusionsmodell der im ANV befindlichen Schlachthausniere gab. Die Fehlersuche zeigte, das Sinistrin<sup>®</sup> im Plasma und im Urin der Schlachthausnieren nur nachgewiesen werden konnte bei gleichzeitiger Änderung von vier in der Inuquant-Messanleitung beschriebenen Arbeitsschritte (vgl. Tabelle 7) :

1. Die Sinistrin<sup>®</sup>-Urinproben mussten infolge der durch das ANV ausgelösten Proteinurie zentrifugiert werden (Reduktion der photometrischen Messabweichungen < 5 %).
2. Die Inkubationszeit wurde auf 35 min verlängert.
3. Die Inkubationstemperatur der Plasmaproben wurde schrittweise um 1 min bzw. 1 °C verlängert bzw. erhöht bis zu dem Umschlagspunkt, ab dem photometrisch, positive Extinktionswerte erreicht wurden.
4. Die Konzentration des Enzyms Inulinase wurde in den Plasmaproben auf 75 U erhöht.

<b>„Steady-state“ perfundierte Schlachthausniere (Ischämisches ANV)</b>	<b>Sinistrin<sup>®</sup>-Messung nach Herstellerangaben</b>  (Inuquant <sup>®</sup> ) Fa. Fresenius, Linz, Österreich	<b>Sinistrin<sup>®</sup>-Messung nach Modifikation</b>
Inkubationszeit	20 min	35 min
Inkubationstemperatur	56 °C	65 °C
Inulinase-Konzentration	37,5 U	75 U
Zentrifugation der Urin Proben	nein	ja
Photometrisch positive Extinktionswerte (Wellenlänge 340 nm)	nein	ja

**Tabelle 7:** Sinistrin<sup>®</sup>-Messung lt. Herstellerangaben vs. Modifikation

Nach Änderung der Inuquant<sup>®</sup>-Messanleitung konnte bei 17/55 perfundierten Schlachthausnieren positive Extinktions-Werte für Sinistrin<sup>®</sup> im Probenplasma photometrisch nachgewiesen werden und anschließend zur Berechnung der Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration im Plasma (Doppelbestimmung; Messfehler < 5% in Plasma und Urin) eingesetzt werden. Wurden nur einzelne Arbeitsschritte verändert, konnten photometrisch unter identischen Versuchsbedingungen nur negative Extinktionswerte gemessen werden. Wahrscheinlich sind die anfänglich negativen Extinktionswerte der Sinistrin<sup>®</sup>-Messung in unserem „steady-state“ Perfusionsmodell durch zelluläre Interferenzen im Probenplasma und den Versuchsaufbau entstanden. Ein Hinweis enthält die Arbeitsanleitung der Fa. Fresenius in der eine unvollständige Hydrolyse des Sinistrins<sup>®</sup> und eine nicht ausreichende Inaktivierung interferierender Enzyme beschrieben wird. Zum Ausschluss von Messfehlern und zur Qualitätskontrolle der manuellen Sinistrin<sup>®</sup>-Messung wurden verschiedene Probenmessungen

durchgeführt bei den sich eine 98 % Wiederauffindungsrate von Sinistrin<sup>®</sup> in verschiedenen Verdünnungsreihen (0,075 - 2,5 mg/ml Sinistrin<sup>®</sup> in 0,9 % physiologischer NaCl-Lösung) zeigte. Zusätzlich wurde die Qualität der manuellen Sinistrin<sup>®</sup>-Messung anhand von Sinistrin<sup>®</sup>-Standards belegt (Fa. Fresenius, Standard-Konzentrationen 949,02 mg/l und 576,68 mg/l). Die Standards wurden jeweils parallel zu der Auswertung der Perfusionsproben sowie bei der in-vivo Kontrollgruppe von narkotisierten Schweinen mitgemessen. Die zuvor beschriebenen Änderungen im Messablauf der Inuquantmethode waren bei den Verdünnungsreihen, den Standards und in der in-vivo Kontrollgruppe nicht erforderlich, weil in diesen Proben keine interferierenden Enzyme durch Ischämie und Hypoxie freigesetzt wurden.

#### **4.2.1 Chemische Eigenschaften Sinistrin<sup>®</sup> versus Inulin**

Ein chemischer Vorteil von Sinistrin<sup>®</sup> gegenüber Inulin ist die Wasserlöslichkeit bei Raumtemperatur sowie eine bessere Stabilität im basischen pH-Bereich (Mertz et al. 1963, Nitsch et al. 1979). Erreicht wird dies durch OH-Seitenketten (vgl. Abbildung 3), so dass Sinistrin<sup>®</sup> auch in hohen Konzentrationen eingesetzt werden kann. Die Stabilität des Sinistrins<sup>®</sup> durch die Seitenketten und die gute Wasserlöslichkeit bestätigen die vorliegenden Ergebnisse. Bei Raumtemperatur konnten Messungen zur Qualitätskontrolle von Verdünnungsreihen bis zu einer Konzentration von 2500 mg durchgeführt werden, ohne dass Ausfällungen beobachtet wurden. Bei Inulin dagegen wurden in der Literatur bei hohen Konzentrationen Ausfällungen beschrieben (Mertz\* et al. 1963). Ein anderer Vorteil Sinistrins<sup>®</sup> gegenüber Inulin besteht darin, dass es vor i.v. Gabe nicht erhitzt werden muss. Dadurch wird eine partielle Hydrolyse des Sinistrins<sup>®</sup> in Fruktose durch zu hohe Temperaturen vermieden. Ein körpereigener Abbau der Fruktose und geringere Konzentrationen im Plasma würden entsprechend der Clearance-Formel fälschlicherweise zu erhöhten Werten führen. Bei dem vollenzymatischen Inuquant<sup>®</sup>-Verfahren, das auf die Erhitzung verzichtet, soll daher die Konzentration von freier Fruktose in Proben laut Herstellerangaben der Fa. Fresenius < 5 mg/ml sein.

#### **4.2.2 Vergleich verschiedener Sinistrin<sup>®</sup>- und Inulin-Messmethoden**

Für die Messung von Sinistrin<sup>®</sup> bzw. Inulin stehen laboranalytisch drei verschiedene Messverfahren zur Verfügung, deren Reaktionsabläufe chemisch, chemo-enzymatisch oder vollenzymatisch sind. Allen drei Methoden gemeinsam ist als erster Reaktionsschritt die Hydrolyse von Inulin/Sinistrin<sup>®</sup> in Fruktose, die durch Säuren oder durch Enzyme erreicht werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurde eine vollenzymatische Methode zur Sinistrin<sup>®</sup>-

Messung eingesetzt (Inuquant<sup>®</sup>, Fa. Fresenius, Österreich), die laut Herstellerangaben den chemischen und chemo-enzymatischen Verfahren überlegen sein soll. Als Vorteile der vollenzymatischen Methode gegenüber den anderen Verfahren werden in der Arbeitsanleitung aufgeführt:

1. keine Deproteinierung von Urin-Proben,
2. keine Hydrolyse von Inulin/Sinistrin<sup>®</sup> durch anorganischen Säuren wie Salzsäure und
3. keine Interferenz mit Plasmaglukose infolge der enzymatischen Substratspezifität

Diese Angaben der Fa. Fresenius konnten für die Sinistrin<sup>®</sup>-Messung in dem vorliegenden Perfusionsmodell nicht bestätigt werden (vgl. Kapitel 4.2).

Wird das vollenzymatische Inuquant<sup>®</sup>-Messverfahren mit den chemischen bzw. chemo-enzymatischen Verfahren verglichen, zeigen sich bei den letzt genannten Verfahren ebenfalls Nachteile. Bei dem chemischen Verfahren wird die Hydrolyse von Inulin/Sinistrin<sup>®</sup> mittels starker anorganischer Säuren wie Salzsäure unter gleichzeitiger Erhitzung des Probenvolumens oder bei der chemisch-enzymatischen Analyse durch Perchlorsäure erreicht. Das in der chemischen Reaktion durch Salzsäure freigesetzte Hydroxymethylfurfural wird quantitativ photometrisch bestimmt. Nachteile dieser Methode ist die gleichzeitige Messung interferierender Plasma-Glukose, die Aufspaltung von Inulin durch Salzsäure und die Deproteinierung der Messproben. Mit der Folge das der chemische Ansatz zu einer geringeren Spezifität der Inulin-Messung führt (Petek et al., o. J.). Andere Autoren beschreiben, dass zur Hydrolyse mit 25 % Salzsäure Fruktose aus im Plasma befindlichen Sachariden freigesetzt wird (Bergmeyer et al. 1984). Infolge der im Perfusionsblut gemessenen Glucosespiegel von 80 - 109 mg/dl und einer ANV bedingten nichtselektiven Proteinurie mit gemessenen Werten von 3133 mg/dl und 1525 mg/dl im Probenurin (t.-perf. = 40 min und 100 min) wurde das chemische Verfahren mit Salzsäure wegen der geringen Substratspezifität und der Seruminterferenzen zum Nachweis von Sinistrin<sup>®</sup> ausgeschlossen.

Wird der zweite Reaktionsschritt (nach Hydrolyse des Sinistrin<sup>®</sup> in Fruktose) des vollenzymatischen mit dem chemo-enzymatischen Verfahrens verglichen, sind zur weiteren quantitativen Bestimmung zwei Messansätze möglich. Bei dem Inuquant<sup>®</sup> Verfahren wird Fruktose durch die Enzyme Hexokinase (HK), Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) und Phosphoglucoseisomerase (PGI) zu D-Gluconat-6-Phosphat umgesetzt. Um Fructose von der Glucose im Blut zu unterscheiden, muss sie von PGI zu Fructose-6-P phosphoryliert werden. Hier zeigen unsere Ergebnisse, dass die Konzentrationen der Enzyme HK, G6P-DH und PGI, anders als bei der Inulinase, die Sinistrin<sup>®</sup> in Fruktose hydrolysiert, nicht verändert werden musste.

Ein anderes enzymatisches Messverfahren basiert auf der durch die Sorbitoldehydrogenase katalysierten Reduktion von Fruktose zu Sorbitol (Summerfield et al. 1993). Die Messung wird ebenso wie bei Inuquant<sup>®</sup> im Gegensatz zu den chemischen Verfahren nicht durch Glukose beeinträchtigt. Gemeinsam ist beiden Verfahren die Reaktion von  $\text{NADH}+\text{H}^+$  zu  $\text{NAD}^+$ . Die verringerte  $\text{NADH}+\text{H}^+$ -Konzentration wird im nächsten Schritt photometrisch bestimmt und ist molar äquivalent zu Fruktose.

Obwohl verschiedene Arbeitsgruppen die hydrolytische Spaltung der Polyfructosane Inulin bzw. Sinistrin<sup>®</sup> durch Inulinasen favorisieren, gibt es Autoren, die die Nachteile der vollenzymatischen Methode beschreiben. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die Auffassung, dass die vollenzymatische Messung von Sinistrin<sup>®</sup> mittels enzymatischer Hydrolyse nicht ideal ist (Summerfield et al. 1993, Sugita et al. 1995). Die Sinistrin<sup>®</sup>-Seitenketten werden von Inulinasen schlechter aufgespalten und nicht vollständig hydrolysiert, als beispielsweise bei dem chemo-enzymatischen Verfahren durch 0,3 mol/l Perchlorsäure (Soper et al. 1995). Die Ergebnisse konnten durch die vorliegende Arbeit bestätigt werden. Die hydrolytische Spaltung von Sinistrin<sup>®</sup> in Fruktose war bei Plasmaproben der isoliert perfundierten Niere nicht vollständig. Eine erhöhte Freisetzung wäre methodisch bedingt beispielsweise durch Ischämie- und Reperfusionsschäden im Verlauf des Schlachtvorgangs, der „steady-state“ Nierenperfusion und des ANV denkbar. Ein bereits angerissener Erklärungsansatz könnten die im Zytoplasma lokalisierten, ubiquitär vorkommenden glykolytischen Enzyme Phosphoglukoisomerase und Phosphohexoisomerase sein, die bei Ischämie und ANV vermehrt freigesetzt werden könnten. Zu diesem Erklärungsansatz ist insgesamt wenig Literatur verfügbar. Lediglich in einigen Arbeiten wird die ischämisch bedingte Freisetzung dieser Enzyme beim Herzinfarkt in Relation zu der Ausdehnung der infarzierten Herzregion beschrieben (Witteveen et al. 1975, Guidollet et al. 1975). Hohe Konzentrationen der beiden glykolytischen Enzyme im Plasma als Folge der ischämischen Schädigung der im polyurischen ANV befindlichen Schlachthausniere könnten die enzymatischen Interferenzen mit der Inuquant<sup>®</sup>-Methode erklären.

#### **4.2.3 Vergleich verschiedener Kreatinin-Messmethoden**

Auch für Kreatinin kann die Wahl der Messmethode Einfluss auf die Kreatinin-Clearance nehmen. Häufig wird aus Kostengründen auf den „Goldstandard“ die High-Performance-Liquid-Chromatography, abgekürzt verzichtet, so dass meist die Jaffé-Methode zur Kreatinin-Messung eingesetzt wird (Reder et Hartmann et al. 1994, Le Garrérés et al. 2001.). Als validiertes Verfahren ist es kostengünstig und mit geringem Aufwand bei kleinen Probenvolumina von 50 - 100 µl Serum oder Plasma durchführbar (Reder und Hartmann et al.

1994, Watson et al. 2002). In der vorliegenden Arbeit wurde eine weitere Reduktion des Probenvolumens auf bis 25 µl gezeigt, ohne dass es zu Messabweichungen kommt. Obwohl die Jaffé-Methode, chemisch auch Nachteile hat, wurde sie in der vorliegenden Arbeit zur Kreatinin-Messung eingesetzt. Ein Nachteil ergibt sich aus dem Messprinzip, das auf der Reaktion von Kreatinin mit alkalischer Pikrinsäure unter Bildung eines photometrisch gemessenen orange-gelben Farbkomplexes basiert (Becker et al. 1987). Die geringe Spezifität des Reaktionsablaufes im Blutplasma kann mit einer Vielzahl von Substanzen wie Cephalosporinen, Cimetidine, erhöhten Harnsäurekonzentrationen, Oxalacetat oder Pyruvat, um nur einige zu nennen, interferieren. Ebenfalls können im Blut sogenannte Chromogene oder Pseudo-Kreatinine (12 - 22 % des Gesamtchromatogengehaltes), die gemessenen Kreatininwerte zwischen 20 - 50 % beeinflussen (Heinegard und Tiderström et al. 1973, Soldin et al. 1978, Knapp und Hadid et al. 1987, Schwendenwein et al. 1993). Der Messfehler tritt allerdings nur im Serum oder Plasma auf. Schwere Muskeltraumata, -dystrophien oder -entzündungen, katabole Situationen (z.B. unter Corticosteroidtherapie) können dagegen die Kreatininfreisetzung erhöhen. Übertragen auf unser Modell der perfundierten Schlachthausniere könnte eine erhöhte Kreatinin Freisetzung bei Schweinemast auf Basis tierischer Proteine, durch Muskeltraumata bei Verladung und Transport der Tiere zum Schlachthof mit konsekutiv erhöhter Clearance auftreten.

Trotz beschriebener Interferenzen kommt Kreatinin in der Nierendiagnostik unverändert zum Einsatz, weil es als Muskelmetabolit nicht i.v. appliziert werden muss. Im Muskel liegt es als Kreatinphosphat in einer Konzentration von 20 mmol/kg Muskelmasse vor (Wels et al. 1987) und wird zu zwei Prozent innerhalb von 24 h mittels Dehydratisierung irreversibel zu Kreatinin abgebaut (Boehncke et al. 1974).

Allerdings besitzt Kreatinin nicht alle idealen Eigenschaften eines glomerulären Markers. Bei hohen Konzentrationen wird Kreatinin auch tubulär von der Niere sezerniert. Infolgedessen kommt es zu einer Überschätzung zwischen 10 - 20 % bei normal hoher GFR. Bei niedriger GFR beträgt die Überschätzung sogar bis zu 70 %. Der Autor einer Übersichtsarbeit schließt mit dem Ergebnis, dass die Kreatinin-Clearance zur Abschätzung der Nierenfunktion nicht zuverlässig ist (Giovannetti et al. 1991). Andere Arbeitsgruppen haben, wie bereits erwähnt, die ausschließliche glomeruläre Filtration von Kreatinin angezweifelt. Ketz und Mitarbeiter wiesen eine tubuläre Sekretion bei erwachsenen Rindern und eine geringe tubuläre Rückresorption bei Kälbern nach (Ketz et al. 1960). Ähnliche Arbeiten konnten allerdings eine tubuläre Rückresorption nicht bestätigen (Hierholzer et al. 1991). Ebenso korreliert Kreatinin mit der Muskelmasse und dem Geschlecht. Beim Hund korreliert Kreatinin zusätzlich auch mit

der Bewegungsaktivität und dem Trainingszustand (Popella et al. 1982). Daten über den Einfluss der Bewegungsaktivität konnten für das Hausschwein in der Literatur nicht gefunden werden. Ausgeschlossen werden kann, dass die Kreatinin-Freisetzung einem circadianen Rhythmus folgt. Boehncke et al. konnten z.B. für Mastkälber zeigen, dass eine streng lineare Beziehung zwischen Körpermasse und täglicher Kreatininausscheidung unabhängig von Tageszeit und Harnvolumen besteht. Bei Tieren mit Körpermassen zwischen 60 kg und 174 kg wurde eine mittlere Kreatininausscheidung von  $0,33 \pm 0,02$  mmol ( $37,4 \pm 2,2$  mg) pro kg/KG/24 h gefunden (De Groot et al. 1960, Boehncke et al. 1980). Der Referenzbereich von Plasmakreatinin für das Schwein wird mit 88 - 177  $\mu\text{mol/l}$  (entspricht 1,0 - 2,0 mg/dl) angegeben (Waldmann et al. 1991). Bei normaler Nierenfunktion und ausgeglichenem Flüssigkeitshaushalt wird daher die Kreatininfreisetzung im Blut in engen Grenzen gehalten. Um diese engen Referenzwerte zu überschreiten und einen gut messbaren Kreatinin-Spiegel zu erhalten, wurde in unserem „steady-state“ Perfusionsmodell 60 mg Kreatinin pro 3 l Dialysat-Lsg. und 2,5 g Sinistrin® in 500 ml autologes Perfusionsblut gemischt (Vgl. Abbildung 8 und 9). Hier zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass das Kreatinin- und Sinistrin®-Bolusverfahren ein geeignetes Verfahren ist, die Messspiegel für beide Marker anzuheben. Bei einer anfänglichen Konzentration für Kreatinin im Dialysat von im Mittel  $200 \pm 14$  mg und für Sinistrin® im Blut im Mittel von  $1140 \pm 105$  mg zu dem Zeitpunkt  $D_1$  bzw.  $A_1$  (Umlauf der Dialysat- und Blut-Volumina ohne Anschluss der Niere) ergab sich ein zeitlich schneller Übertritt für Kreatinin aus dem Dialysat in das Blutvolumen und für Sinistrin® aus dem Blut in das Dialysatvolumen. Am Ende der Perfusion nach 100 min betrug für Kreatinin die Konzentration im Dialysat  $150 \pm 16$  mg bei gleichzeitigem Anstieg im Blut zu dem Zeitpunkt  $A_1$  von  $15 \pm 2$  mg auf  $47 \pm 5$  mg nach 100 min Perfusion zu dem Zeitpunkt  $A_6$ . Für Sinistrin® zeigte sich zu dem Zeitpunkt  $A_6$  nach 100 min Perfusionszeit im Blut ein erwarteter Abfall auf  $117 \pm 29$  mg bei gleichzeitigen Anstieg im Dialysat auf  $1555 \pm 87$  mg zu dem Zeitpunkt  $D_6$ . Somit belegen die Ergebnisse insgesamt, dass ein guter Stoffaustausch mit Angleichung der Konzentrationsgefälle zwischen der Dialysatmembran und dem arteriellen Blutschenkel des Perfusionssystems stattfindet.

Mittels der gängigen Methoden zur Inulin- als auch Kreatininmessung ist in-vivo ein seitengetrennter Funktionsvergleich der Nieren nicht möglich. Hier zeigen sich beispielsweise nuklearmedizinische Verfahren mit als i.v. zu applizierende Tracer wie  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3 (Mercaptoacetyltriglycerin),  $^{14}\text{C}$ -Kreatinin,  $^{14}\text{C}$ -Inulin,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA,  $^{51}\text{Cr}$  EDTA) als Alternative. Eine andere mit Inulin und Kreatinin konkurrierende Markersubstanz ist z.B. das jodhaltige Iohexol. Es ist nicht-ionisch, niedrig-osmolar und zeigt nur eine geringe Plasma-

Eiweiß-Bindung bei jedoch geringer Toxizität (Moe et al. 1995, Gleadhill et al. 1996). Ein Vorteil ist die ausschließliche renale als auch konstante Elimination (Meyer-Lindenberg et al. 1998b). Von Nachteil ist, dass der messtechnische Nachweis durch zwei Isomere erschwert wird (Krutzen et al. 1984).

Eine andere Markersubstanz ist das seit Mitte der 80iger Jahre eingesetzte Cystatin C, das mit einem Molekulargewicht von 13,359 kDa (120 Aminosäuren), ebenfalls zur Nierenfunktionsprüfung eingesetzt wird. Der Marker wird in allen eukaryoten Zellen produziert. Nachweisbar ist er beispielsweise im Liquor. Das niedermolekulare Protein wird glomerulär frei filtriert und fast vollständig im proximalen Tubulus metabolisiert. Die physiologischen Konzentrationen im Urin liegen zwischen 0,03 und 0,3 mg/l. Bei entzündlichen Prozessen und anderen pathologischen Zuständen wird es in konstanter Rate produziert, so dass die diagnostische Sensitivität größer als beim Serum-Kreatinin ist. Die Meinungen in der Literatur über die Vorteile von Cystatin C gegenüber Kreatinin sind verschieden (Filler al. 1999; Stickle al. 1998). Einige Arbeiten zeigen eine diagnostische Überlegenheit für Cystatin C, andere sehen keine Unterschiede zu Kreatinin (Helin al. 1998; Ylinen et al. 1999).

Eine gänzlich andere, messunabhängige Fehlerquelle ergibt sich aus dem hyperbolischen Zusammenhang des Plasma-Kreatinins mit der Kreatinin-Clearance bei der ein Anstieg des Plasma-Kreatinins erst bei einem Abfall der GFR auf unter 50% nachweisbar ist. Als „kreatininblinder Bereich“ wird dies bezeichnet (Kolenda et al. 1981). Wird zur Nierendiagnostik eine 24 h Kreatinin-Clearance ermittelt, können quantitative Messfehler bei der Bestimmung, wie Versuche mit narkotisierten Tieren zeigen, durch Sammelfehler des Harnvolumens auftreten. Die Harnblase wird pro Sammelperiode nicht vollständig entleert. Die Messung der ausgeschiedenen Kreatininmenge ist verfälscht, eine zu geringe GFR wird berechnet.

Wie plausibel ist in unseren Versuchen nun die statistisch nicht signifikante Differenz zwischen der Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance. Sowohl laborchemische Einflüssen als auch pathophysiologische Prozesse der isoliert perfundierten Schlachthausniere haben, wie gezeigt werden konnte, Einfluss auf die Inuquant<sup>®</sup>-Messmethode.

Für die Kreatinin-Clearance ergibt sich eine Unterschätzung der Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance infolge der bekannten Clearance-Formel, bei der die Kreatinin-Werte im Plasma und im Urin in die Berechnung eingehen. Die o.g. Arbeiten zeigen, dass die Jaffé-Methode im Plasma (Chromogene) und/oder im Urin (Exkretion bei niedriger GFR) falsch-hohe oder falsch-niedrige Werte angibt. Oben im Zähler der Clearance-Formel steht das Urin-Kreatinin,

erniedrigt also die berechnete Clearance bei sinkenden Werten oder erhöht sie bei steigenden Werten. Umgekehrt steht das Plasma-Kreatinin im Nenner und erniedrigt das Ergebnis bei steigenden Werten oder erhöht es bei sinkenden Werten. Ähnliche Ergebnisse, die die aktive Sekretion von Kreatinin beschreiben, wurden bereits 1935 publiziert, (Shannon et al. 1935). Durch Gabe des organischen Kations Phlorizin wurde die proximal-tubuläre Sekretion der Kreatinin-Ausscheidung gehemmt und folglich erniedrigt. Die bei einer erniedrigten GFR zunehmende tubuläre Sekretion von Kreatinin führt dann mittels der klassischen Clearance-Formel zu einer falsch hohen GFR. Dieser Argumentation folgend, müsste im Verlauf der „steady-state“ Perfusion Kreatinin bei Clearance-Werten im Median von 4,2 bis 7,6 ml min<sup>-1</sup> \* 100g Nierengewicht eine tubuläre Sekretion stattfinden. Die tatsächliche mittels der Kreatinin-Clearance geschätzte GFR wäre noch niedriger. Somit würden sich die von Rehberg formulierten idealen Markereigenschaften für Kreatinin auch für das „steady-state“ Modell der isoliert perfundierten Schlachthausniere nicht bestätigen (Rehberg et al. 1929). Kreatinin wird zwar glomerulär frei filtriert, tubulär nicht metabolisiert und nicht rückresorbiert, jedoch mit sinkender GFR zunehmend sezerniert (Berglund et al.1975, Dubb et al. 1978, Burgess et al. 1982, Shemesh et al.1985).

#### 4.2.4. Sinistrin<sup>®</sup> - (Inulin like) versus Kreatinin-Clearance

Wingenfeld et al. 1996, Weinberg et al. 1997 und Yan et al. 1997 definierten verschiedene Anforderungen, die idealerweise von Clearance-Markern zur Schätzung der GFR erfüllt sein müssen:

1. physiologische und pharmakologische Unbedenklichkeit
2. freie Filtrierbarkeit in die Glomerula
3. keine Metabolisierung und Katabolisierung
4. keine extrarenale Sekretion
5. keinen Einfluss auf die renale Funktion
6. keine Bindung an Plasmaproteine
7. keinen Transport durch tubuläre Zellen

Die idealen, pharmakokinetischen Eigenschaften werden uneingeschränkt von Sinistrin<sup>®</sup> mit einem Molekulargewicht von 3500 Dalton, gleiches gilt für Inulin, und eingeschränkt für Kreatinin als kleinem, endogenen Molekül (Molekulargewicht 113 Dalton) erfüllt (Nitsch, o. J.; Spies et al. 1992; vgl. Abbildung 3).

Die Konzentrationen von Sinistrin<sup>®</sup> in den Plasma- und Urinproben wurden in dieser Arbeit, wie in der Literatur gefordert, aufgrund unterschiedlicher Molekülgrößen in mg/l angegeben (Haller et al. 1998). Aufgrund der Einschränkung das Kreatinin auch sezerniert werden kann, wurde die Inulin-Clearance als „Goldstandard“ zur Abschätzung der GFR bereits 1935 von Shannon und Smith entwickelt (Shannon et al. 1935).

Die Berechnungen aus unserem „steady-state“ Modell der isoliert perfundierten Schlachthausniere ergaben keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>- (Inulin like) Clearance. Für Sinistrin<sup>®</sup> betrug die Clearance im Verlauf der Perfusion im Median nach 20 min  $12 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ , nach 40 min  $6 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ , nach 60 min  $5 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ , nach 80 min  $5 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$  und nach 100 min  $6 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ . Im Vergleich zu Sinistrin<sup>®</sup> betrug die Clearance für Kreatinin  $8 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ ,  $5 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ ,  $5 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ ,  $4 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$  und  $4 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ . Insgesamt lagen beide Clearance-Werte deutlich unterhalb der Literatur entnommenen Normalwerte für Hausschweine ( $50 - 70 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$ ). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass Sinistrin<sup>®</sup> ähnlich wie Inulin als idealer Marker in einem „steady-state“ Modell der isolierte perfundierten Schlachthausniere zur Berechnung der renalen Clearance eingesetzt werden kann. Ein Hinweis, dass Sinistrin<sup>®</sup> von der Schlachthausniere nicht frei filtrierte oder tubulär reabsorbiert wurde, konnte nicht gefunden werden. Auch für andere

Spezies wie Hunde oder Laborratten konnte bei guter Übereinstimmung der Clearance-Werte ein körpereigener Abbaus Sinistrins<sup>®</sup> verglichen mit Inulin als Referenzsubstanz nicht gefunden werden (Harth et al. 1963). Wird die Sinistrin<sup>®</sup>-mit der Kreatinin-Clearance narkotisierter Schweinen verglichen, zeigte sich, dass sich kein signifikanter Unterschied für die Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance von  $41 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$  verglichen mit der Kreatinin-Clearance von  $43 \text{ ml min}^{-1} * 100\text{g NG}$  zeigte. Die in-vivo Ergebnisse bestätigen, dass die Clearance-Werte narkotisierter Schweinen erniedrigt sind (Wendt et al. 1990). Ebenso ergab sich bei den in-vivo Versuchen kein Hinweis, dass Sinistrin<sup>®</sup> nephrotoxisch ist oder von Proteinen wie Albuminen oder Globulinen gebunden wird (Mertz et al. 1963). Weitere in der Literatur beschriebene Vorteile sind, dass Sinistrin<sup>®</sup> von Blutzellen wie Granulozyten, Thrombozyten oder Erythrozyten nicht aufgenommen wird (Heiene et al. 1998). Ob allerdings die Zellmembranen von Erythrozyten oder Thrombozyten durch nicht-pulsatile mechanische Rollerpumpen geschädigt wird und doch zu einer Aufnahme von Sinistrin<sup>®</sup> führt, müsste durch weitere Versuchsreihen geklärt werden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen eine Wiederauffindungsrate von 88 % im in-vivo Plasma von Schweinen (Messfehler < 5 %, parallele Messung Sinistrin<sup>®</sup>-Standards). Insgesamt wäre hier eine höhere Wiederauffindungsrate zu erwarten gewesen.

Um eine zuverlässige Clearance-Messung durchzuführen, ist ein guter Messspiegel des Markers notwendig. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass eine Bolusgabe von 5 mg Sinistrin<sup>®</sup>/500 ml autologem Blut zur Perfusion, in der Kontrollgruppe von 70 mg Sinistrin<sup>®</sup> pro narkotisiertem Schwein und zusätzlich zur Dosiserhaltung eine Dauerinfusion von 60 mg/h einen guten messbaren Sinistrin<sup>®</sup>-Spiegel ergab. Die Sinistrin<sup>®</sup>-Bolusgabe ermöglicht grundsätzlich auch eine endogene Clearance Berechnung bei der auf die Bestimmung des häufig nicht exakt bestimmbar Harnvolumens verzichtet werden kann (Sapirstein et al 1955). Ein zu hohes Harnvolumen kann insbesondere bei in-vivo Untersuchungen an nicht narkotisierten Tieren oder in der klinischen Routine bei Patienten auftreten. Um dies zu vermeiden wurde in dieser Arbeit in der Kontrollgruppe der narkotisierten Schweine zum Ende einer jeden Sammelperiode die Harnblase vorsichtig mit Luft gefüllt. Dadurch wurde das verbliebene Restharnvolumen bei den Schweinen in Richtung des Blasenkatheters gedrückt. Diese Technik ist bei nicht narkotisierten Patienten oder Tieren nicht möglich. Das Prinzip der endogenen Clearance basiert auf einem 2-Kompartiment-Modell bei der die Plasma-Elimination von Inulin durch zwei monoexponentielle Funktionen dargestellt wird. Die Distributionsphase der Clearance-Marker im Körper (ca. 60 min) entspricht der Verteilung vom Intravasalraum in den Extrazellularraum. Die Anfangskonzentrationen des Bolus p.i. reduziert sich auf etwa ein

Viertel bis ein Fünftel. Anschließend beginnt die Eliminationsphase beispielsweise des Inulins. Nach der Bolusgabe kann der Konzentrationsabfall über die Zeit gemessen werden und erlaubt mittels Flächenberechnung unter der Konzentrations-Zeit-Kurve die Berechnung der Inulin-Clearance, ohne dass hierfür die klassische Clearanceformel notwendig ist. Donaths etablierte das 2-Kompartiment-Modell mittels 1200 Single Inulin-Bolus Untersuchungen. Die Clearance-Werte betragen zwischen 7 und 172 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Donath et al. 1971). Andere Autoren bestätigten die Aussagen (Sakai et al. 1969, Vogeli et al. 1971).

#### **4.2.5 Vergleich von Clearance-Methoden mittels verschiedener statistischer Verfahren**

Grundsätzlich werden zur statistischen Bestimmung der Zuverlässigkeit vergleichender Clearance-Methoden in der Literatur unterschiedliche, zum Teil widersprüchliche Aussagen getroffen. In vielen Studien, die Methoden miteinander vergleichen, werden häufig Korrelationen und Regressionen mit Angabe des Signifikanzniveaus eingesetzt. Dieser statistische Ansatz wurde von Bland und Altman in zwei Arbeiten grundsätzlich in Frage gestellt (Bland et Altman 1986 et 1990). Mittels Korrelationen wird lediglich der Zusammenhang von Methoden beschrieben. Bland und Altman fordern aber für wissenschaftliche Arbeiten die Untersuchungsmethoden vergleichen, die graphische Beschreibung von Übereinstimmung zwischen Wertepaaren. Ist der Mittelwert aller Differenzen positiv, zeigt dies eine Unterschätzung, ist er negativ, zeigt dies eine Überschätzung der Messmethode an (vgl. Bland-Altman-Plots, Abbildung 12 - Abbildung 16). Die durchgezogenen Linien zeigen die in dieser Arbeit abgebildeten Bland-Altman-Plots die +/- 2fache Standardabweichung aller Differenzen an, innerhalb dieser Grenzen liegen 95 % aller Clearance-Daten.

Im statistischen Vergleich der Mediane der Sinistrin<sup>®</sup>- und der Kreatinin-Clearance zeigte sich bei 5 Messpunkten ( $A_1 - A_6 =$  Sammelphasen 20 - 100 min; vgl. Abbildung 2) im Perfusionsverlauf (Darstellung der Ergebnisse als Box- und Whisker-Plots) ein Nachteil. Bei Prüfung der Median-Daten mittels Mann-Whitney-U-Test/Wilcoxon-Test ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Sinistrin<sup>®</sup>- und der Kreatinin-Clearance. Die Bland-Altman-Plots zeigten hingegen zu allen Clearance-Messpunkten bei 20, 40, 60, 80 und 100 min im Mittelwert der Differenzen der Sinistrin<sup>®</sup>- und der Kreatinin-Clearance positive Werte. Nach Bland und Altman folgt daraus eine Unterschätzung der Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance durch die Kreatinin-Clearance im gesamten Perfusionsverlauf. Die Unterschätzung der Sinistrin<sup>®</sup>- durch die Kreatinin-Clearance war in der in-vivo Kontrollgruppe am geringsten. Die vorliegenden Ergebnisse belegen somit die höhere Sensitivität dieses von Bland und Altman eingeführten graphischen und statistischen Verfahrens.

#### **4.3. Nierenfunktionsparameter im Verlauf der „steady-state“ Perfusion**

Erstmalig konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass Schlachthausnieren von Schweinen in einem von den Perfusionsbedingungen stabilen Gleichgewicht („steady-state“) zu pharmakologischen oder physiologischen Fragestellungen untersucht werden können (Stahl et al. 2002, vgl. Dissertation Jäckel, Charité 2000). Voraussetzungen waren eine kontinuierliche Dialyse des autologen Blutes, die Regulierung des Elektrolyt- und Säure-Basen-Status, sowie ein permanenter O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Gasaustausch zur gleichzeitigen Oxygenierung und Decarboxylierung.

Bei sechs von 17 Schlachthausnieren (Gruppe II) mit einem Nativgewicht von im MW  $240 \pm 7$  g zeigten die Nierenfunktionsparameter ein ANV an. Bei 11/17 Nieren (Gruppe I) mit einem Nativgewicht von im MW  $170 \pm 8$  g wurde für einzelne Funktionsparameter näherungsweise physiologische Werte gefunden. Die Nieren mit dem niedrigsten Nativgewicht (Gruppe I) zeigten bei erneuter Messung des Nierengewichtes nach Perfusionsende die geringste Gewichtszunahme von im Mittel  $25 \pm 2$  %. Im Gegensatz dazu zeigte die Gruppe II, die Nieren mit dem höchsten Nativgewicht, die größte Gewichtszunahme von im Mittel  $43 \pm 2$  %. Daraus ergibt sich, dass einzelne Nierenfunktionsparameter von dem nativen Gewicht der Schweinenieren und der prozentualen Gewichtszunahme im Verlauf der „steady-state“ Perfusion abhängen.

In der Literatur werden eine Vielzahl von Faktoren diskutiert, die ein ANV auslösen können. Als Ursachen werden Volumenmangel, Ischämie, Hypoxie oder nephrotoxische zu einer tubulären Nekrose führende Metabolite genannt (Mason et al. 1984, Edelstein et al. 1997). Strukturelle Folgen sind beispielsweise tubuläre Obstruktionen oder der Einstrom von Filtrat in das Interstitium der Niere, sogenanntes „back-leak“ (Donohoe et al. 1978, Sutton et al. 2002). Die vorliegenden Ergebnisse zeigen die Schädigung des glomerulären und tubulären Systems durch den hämodynamischen Schock der Schlachtung, durch die kalte und warme Ischämiezeit, den Vorschub azidotischer Metaboliten in der Phase der Reperfusion und Perfusion, die renale Vasokonstriktion infolge der hypothermen Konservierung sowie den methodenbedingten Einfluss mechanischer, nicht pulsatiler Rollerpumpen.

#### **4.3.1 Einfluss der Reperfusionsschäden auf die Nierenfunktionsparameter der isoliert perfundierten Schlachthausniere**

Reperfusionsschäden, die durch verschiedene Entzündungszellen und ihre Mediatoren ausgelöst werden, können zu histologischen Alterationen an der Henle'schen Schleife und dem S3-Segment des proximalen Tubulus führen (Epstein et al. 1997). Es wurde beschrieben, dass sie am Nierenendothel zu einer Expression von Antigenstrukturen, einer Überexpression von T-Zell-assoziierten Zytokinen und mitochondrialen Dysfunktionen führen (Versteilen et al. 2004). Takada und Hauet zeigten, dass Ischämie- und Reperfusionsschäden zu einer Adhäsion von Monozyten, Makrophagen und einer Sequestration von neutrophilen Leukozyten führte (Takada<sup>1</sup> et al. 1997, Takada<sup>2</sup> et al. 1997, Hauet et al. 2002). Die Perfusion mit autologen Blut kann Entzündungszellen wie Leukozyten oder Monozyten enthalten, so dass die Annahme berechtigt ist, dass diese Zellen die extrakorporal perfundierten Schlachthausnieren schädigen und ein ANV mitverursacht haben. Ob eine maximal 100 minütige Perfusionsdauer ausreichend ist, um eine humorale bzw. zelluläre Immunantwort auszulösen, kann allerdings mit den vorliegenden Ergebnissen nicht sicher beantwortet werden. Neben den verschiedenen Entzündungszellen wurden auch Zytokine wie TNF $\alpha$  oder IL-1 als Mediatoren des ANV beschrieben (Simmons et al. 2004). In das Interstitium der Niere liberierte Zytokine könnten durch Chemotaxis das Auswandern von Entzündungszellen aus dem Gefäßbett einer durch Reperfusion geschädigten Niere beschleunigen und eine interstitielle Entzündungsreaktion hervorrufen. Interstitielle Leukozyteninfiltrationen konnten in einer aktuellen Studie eine Entzündungskaskade auslösen und die Niere ins ANV perpetuieren (Ysebaert et al. 2004). In einem Tierexperiment konnte die ein ANV auslösende Entzündungskaskade durch neutralisierende Antikörper gegen CD 11a/CD 18 oder interzelluläre Adhäsionsmoleküle (ICAM) unterbrochen und verkürzt werden (De Greef et al. 2001).

#### **4.3.2 Einfluss der Ischämie auf die Nierenfunktionsparameter der isoliert perfundierten Schlachthausniere**

Der histologische Grad der Nierenschädigung ist abhängig von der Dauer der warmen und kalten Ischämie bei der reaktive Metaboliten wie beispielsweise Superoxid-Radikale oder Peroxide freigesetzt werden (Stünzi et al. 1990, Tahara et al. 2005). In der vorliegenden Arbeit betrug die warme Ischämiezeit (Schlachtvorgang bis zur Organkonservierung) im Mittel  $19 \pm 2$  min, die kalte (hypotherme Konservierung)  $5 \pm 0,5$  h. In der Literatur werden insgesamt widersprüchliche Angaben zu der tolerablen Ischämiezeit gemacht (Brasile et al. 2001 und 2002). Bei humanen laparoskopischen Nephrektomien wird die von der Niere tolerierte

Ischämiezeit mit Werten von zwei bis neun Minuten angegeben (Rassweiler et al. 2001). Je nach Studie variieren die Zahlen stark mit Werten von zwei bis vier Minuten (Nogueira et al. 1999) oder auch von drei bis sechs Minuten (Montgomery et al. 2001). Dagegen finden sich keine konkreten Angaben zur warmen Ischämiezeit bei offener Lebendnierenspende, angenommen wird, dass sie weniger als eine Minute beträgt (Rassweiler et al. 2001). Histologisch lassen sich durch eine experimentelle Ischämie von 60 Minuten an allen Nierenstrukturen Schäden darstellen (Cain et al. 1963).

In einer vergleichbaren Studie über den Einfluss warmer Ischämiezeit (30 min), Hypothermie und normothermer Perfusion war das Tubulussystem zu 50 - 70 % geschädigt. Verantwortlich für den histologischen Schaden war die Migration von neutrophilen Granulozyten in das Tubulusepithel und in die Bowmannsche Kapsel (Brasile et al. 2001). In einer folgenden Studie mit einer warmen Ischämiezeit von 120 min waren verstärkt Blutungen im Interstitium und Markbereich nachweisbar. Während der nierenkonservierenden Hypothermiephase wurde eine in den Gefäßen verstärkte Thrombusneigung sowie intermittierende Tubulusnekrosen sichtbar. Bei der anschließenden warmen Perfusion zeigten die Gefäße histologisch keine Veränderung, die Tubuli hatten nur eine leichte Schwellung. Das histologische Bild stand erstaunlicherweise in keinem Verhältnis zur Schwere der Schädigung durch die warme Ischämiezeit (Brasile et al. 2002).

Insbesondere die stark durchblutete Nierenrinde, die Oberfläche des glomerulären Kapillarendothels und der ascendierenden Ast der Henleschen Schleife können durch ischämisch liberierte Radikale geschädigt werden (Paller et al 1984, Bird et al. 1988). Störungen der renalen Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes sind eine mögliche Folge (Bonventre et al. 1993). Unsere Ergebnisse bestätigen die o.g. Aussagen. Die renalen Strukturen für Harnkonzentration und Wasserresorption wurden in unserem „steady-state“ Perfusionsmodell methodenbedingt in der Phase der Organgewinnung und zusätzlich wahrscheinlich im Verlauf der Perfusion geschädigt. Infolge zeigte sich bei der Mehrzahl der Nieren ein poly- und hypostenurisches ANV.

Besonders die Natrium-Kalium-ATPasen, die in den proximalen und distalen Nierentubuli lokalisiert sind, reagieren mit Funktionsverlust auf Ischämie und Hypoxie. Sie benötigen Sauerstoff und Substrate, um energieabhängige Transportprozesse wie Natriumrückresorption aufrechtzuerhalten. Eine Schädigung der Natrium-Kalium-ATPasen zeigte sich bei den vorliegenden Ergebnissen anhand der niedrigen tubulären Natrium-Rückresorption. Für die Schlachthausniere wurden im Median Werte von  $0,9 \text{ mmol min}^{-1} * 100\text{g Nierengewicht}$  nach 20 min Perfusionszeit berechnet, die im weiteren Perfusionsverlauf nach 100 min auf 0,6 und

0,5 mmol min<sup>-1</sup> \* 100g Nierengewicht absanken und deutlich unter den Normalwerten für Hausschweine lagen (Hannon et al. 1990, Waldmann et al. 1991). Das lysosomale Bürstensaumenzym  $\beta$ -NAG, als ein weiterer Marker für tubuläre Schäden, lag im Urin der Schlachthausnieren nach 20 und 40 min Perfusionszeit bei Werten von 84 und 80 U l<sup>-1</sup>. Nach 60, 80 und 100 min Perfusionszeit waren die Werte mit 33 – 53 U l<sup>-1</sup> signifikant erniedrigt. Die  $\beta$ -NAG Ergebnisse der in-vivo Kontrollgruppe waren bei Konzentrationen zwischen 5 - 16 U l<sup>-1</sup> niedriger. Der Abfall der  $\beta$ -NAG-Werte ab der 60. Perfusionsminute kann am ehesten als Folge eines perfusionsbedingten wash-out-Effektes bei nicht progredienter Tubulusschädigung im weiteren zeitlichen Verlauf der Perfusion interpretiert werden. Im statistischen Vergleich der verringerten tubulären Natriumrückresorption mit der erhöhten  $\beta$ -NAG Konzentration im Urin konnte eine Korrelation nicht nachgewiesen werden.

Das intermitotische Nierengewebe wurde verschieden als regenerationsfähig beschrieben. Die Regenerationskraft lässt erst ab einer strukturellen Schädigung > 70 % nach (Cain et al. 1963, Price et al. 2004). Ein Regenerationsprozess der extrakorporal perfundierten Schlachthausnieren konnte im Verlauf der relativ kurzen, 100minütigen Perfusionsphase nicht gezeigt werden. Inwieweit die beobachtete massive tubuläre Schädigung überhaupt eine Regeneration zuließe ist unklar. Insbesondere in der Nierengruppe II, den Nieren mit dem höchsten Ausgangsgewicht und der prozentual größten Gewichtszunahme war eine Regeneration nicht nachweisbar. Die Nierenfunktionsparameter wurden im Verlauf der Perfusion eher schlechter. Bei Annahme einer vom Nierengewicht unabhängigen Anzahl von Glomerula und Tubuli würde in Gruppe II, infolge der methodisch bedingten größeren Parenchymschwellung, die Diffusionsstrecke für O<sub>2</sub> verlängert sein. Eine Gewebshypoxie sowie eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität mit Abfall des peripheren Widerstandes wäre die Folge. Insbesondere für die Nierengruppe II ist dieser Erklärungsansatz von Bedeutung. Die besseren Funktionsparameter der Gruppe I bezogen auf die geringere prozentuale Gewichtszunahme verglichen mit der Gruppe II unterstützen diese Hypothese. In Gruppe I zeigten die Nieren bei geringerem Nativgewicht und prozentualer geringerer Gewichtszunahme überwiegend gute Funktionswerte. Daraus lässt sich schlussfolgern, das Schweinenieren empfindlicher auf Hypoxie reagieren, je größer das native Nierengewicht und je größer die prozentuale Gewichtszunahme im Perfusionsverlauf ist und umgekehrt. Ähnliches gilt für die Nierenfunktionsparameter, die besser sind, je niedriger das Nativgewicht und je geringer die prozentuale Gewichtszunahme im Perfusionsverlauf ist. Trotz standardisierter Perfusionsbedingungen waren gute Nierenfunktionswerte nicht für die Gruppe II

reproduzierbar, so dass anzunehmen ist, dass eine massive tubuläre Schädigung vorlag, die eine Regeneration des Nierenparenchyms nicht mehr zuließ.

In der Einzelbetrachtung der Nieren # 258, # 272 und # 277 der Gruppe I zeigte sich eine vergleichsweise geringe tubuläre Schädigung. Für die tubuläre  $\beta$ -NAG- und intrazelluläre Kalium-Freisetzung zeigten sich im Vergleich zur Gruppe II physiologische Werte. Bei allerdings vergleichsweise hohem renal vaskulären Widerstand konnte für die Nieren der Gruppe I eine höhere Filtrationsfraktion als bei den Nieren der Gruppe II berechnet werden. In Gruppe I war die Albumin- und Gesamtproteinausscheidung im Urin am niedrigsten als Hinweis eines geringen Schädigungsgrades. Alle drei Nieren hatten eine niedrige Sinistrin<sup>®</sup>- bzw. Kreatinin-Clearance und einen deutlich geringeren Volumenstrom. Denkbar wäre, dass bei einem erniedrigten Volumenfluss, der glomeruläre Perfusionsdruck durch Vasokonstriktion einer myogen intakten Vas efferens der isoliert perfundierten Niere aufrechterhalten wurde. Zwar würde der renale Blutfluss der Niere dadurch vermindert, aber die Filtrationsfraktion, wie von uns am renalen Widerstand beobachtet, könnte ansteigen. Eine verstärkte Reninfreisetzung als Mediator der Vasokonstriktion könnte durch Bildung von Angiotensin II zu einer Konstriktion des Vas efferens und der Mesangiumzellen führen.

Ein anderer Erklärungsansatz für die erhöhte renale Vasokonstriktion und dem Abfall der GFR im Verlauf der „steady-state“ Perfusion wäre ein als tubuloglomerulärer Feedback (TGF) bezeichnete Mechanismus. Der TGF reguliert die Filtration eines einzelnen Nephrons. Bei einem Anstieg des NaCl-Gehalts im frühen, distalen Tubulus kommt es über eine Sensorfunktion der "Macula densa" zu einer Reduktion der GFR desselben Nephrons (Osswald et al. 1996). Ausgelöst wird eine vom Mesangium vermittelte Vasokonstriktion in den Arteriolen und dadurch eine Verminderung der Filtrationsfläche. Dies entspricht einem physiologischen Regulationsmechanismus, der das Einzelnephron vor Hyperfiltration schützen soll und beim ANV "fälschlicherweise" dadurch aktiviert wird, dass die NaCl-Resorption, durch die tubuläre Schädigung stark beeinträchtigt wird. Die Folge ist eine erhöhte Flussrate im distalen Tubulus und/oder ein erhöhtes NaCl-Angebot im Bereich der "Macula densa", was schließlich ein TGF mit konsekutiv verringerter GFR auslöst (Braam et al. 1993). Ein TGF-Mechanismus würde in unserem Modell, die erniedrigte GFR erklären können. Die Schädigung der nicht mehr zur Rückresorption befähigten Natrium-Kalium-ATPasen könnte zu einem Anstieg von NaCl im Tubulussystems führen, eine Vasokonstriktion würde ausgelöst mit folglich verringerter GFR.

### **4.3.3 Proteinurie der isoliert perfundierten Schlachthausniere**

Physiologisch scheidet die Niere Proteine in geringen Mengen über den Urin aus wobei 99 % der Proteine im proximalen Tubulussystem mittels Pinozytose und Endozytose rückresorbiert werden. Das Segment S1 des vakuolaren-lysosomalen Systems des proximalen Tubulussystems spielt für die Reabsorption und Aufspaltung von Albumin und anderen niedermolekularen Proteinen eine entscheidende Rolle (Maack et al. 1985, Christensen et al. 1991). Verschiedene Untersuchungen an isoliert perfundierten Rattennieren (Sumpio et al. 1982), an in-vivo-Mikropunktionsstudien (Christensen et al. 1983) sowie am isoliert perfundierten proximalen Tubulus von Hasen (Park et al. 1988) zeigten, dass die Reabsorption von Proteinen in Abhängigkeit von Molekülgröße, -konfiguration sowie elektrischer Ladung erfolgt. Treten infolge von Ischämie und Hypoxie strukturelle Schädigungen auf, erhöht sich die Proteinpermeabilität der Niere und erniedrigt sich die Fähigkeit der Niere zur tubulären Reabsorption von Proteinen. In unserem „steady-state“ Modell zeigte sich infolge der glomerulären und tubulären Schäden ein deutlicher Abfall des Kolloidosmotischen Drucks (KOD) ändern. Die Plasmaproteine werden über die Vas afferens an den geschädigten Glomerula vorbeigeführt und in das Tubulussystem filtriert, das aufgrund der Schädigung die Proteine nicht rückresorbieren kann. Eine deutliche Erhöhung der Gesamtproteinkonzentration im Urin der Schlachthausniere ist die Folge. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen daher das Bild einer nicht-selektiven Proteinurie. Der Verlust der zellulären Polarität der Glomerula oder Tubuli wäre ein weiterer Ansatz das Absinken des KOD in der Anfangsphase der Nierenperfusion zu erklären (Wagner et al. 1999). Der KOD verringerte sich initial von 22 mmHg (physiologischer Wert) auf 5-6 mmHg ab der 40. bis zur 100. Perfusionsminute. Die Albumin-Konzentration im Plasma in der Anfangsphase der Perfusion sank beispielsweise von im Median 2,6 g dl<sup>-1</sup> auf 1,7 und 1,6 g dl<sup>-1</sup>. Die Ergebnisse zeigen den Verlust der Filtrationsbarriere durch Abnahme der zellulären Polarität. Eine nicht-selektive, massive Proteinurie der isolierten perfundierten Schlachthausniere ist das Ergebnis.

### **4.3.4 Calcium-Antagonisten und Polyethylenglykol zur Nierenprotektion**

Insgesamt ist es schwierig, den pathophysiologischen Stellenwert methodisch bedingter Faktoren wie Ischämie oder Hypoxie abzuschätzen, die bei der Nierenparenchymschädigung eine Rolle spielen. Intrazellulär imponiert eine ischämisch bedingte Schädigung durch eine massive Zunahme des Ca<sup>2+</sup>, einem sogenannten „overload“. Die Folge zeigt sich in einer für das ischämische ANV charakteristischen epithelialen Zellnekrose (Schrier et al. 1987). Obgleich die physiologischen Mechanismen des Ca<sup>2+</sup> „overloads“ der ischämischen Niere nicht

völlig geklärt sind, spricht vieles dafür, dass ein erhöhtes zytosolisches  $\text{Ca}^{2+}$  ein wichtiger Vermittler eben der epithelialen Nekrose ist, die zu einer Reduzierung der GFR führen kann (Schrier et al. 1984; Wilson et al. 1984; Wong et al. 1986). In unserem Perfusionsmodell zeigten sich anhand einzelner Funktionsparameter Obstruktionen des tubululären Systems, die kombiniert über o. g. zytosolischen  $\text{Ca}^{2+}$ -overload und ischämisch bedingten Polaritätsverlust im Bereich des proximalen Tubulus entstanden. Die Gabe eines  $\text{Ca}^{2+}$ -Blockers soll daher protektiv auf das Nierenparenchym wirken (Goldfarb et al. 1983, Shimizu et al. 1990). Daher wurde in der vorliegenden Arbeit der Nierenkonservierungslösung und dem autologen Perfusionsblut 5 mg Verapamil<sup>®</sup> ( $\text{Ca}^{2+}$ -Kanal Antagonist) beigemischt, allerdings ohne dass die Nierenfunktionsparameter besser wurden. Neuere Untersuchungen an isolierten Langendorff-Herzen von Meerschweinchen belegen, dass eher Mibefradil<sup>®</sup> als  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanal Antagonist vor Ischämie- und Reperfusionsschäden schützt als Verapamil<sup>®</sup> (Grasic et al. 2004).

Ein anderer Ansatz um die Auswirkungen der warmen und kalten Ischämie in unserem Modell zu reduzieren, war die Beimischung von Polyethylenglykol (PEG) in die Konservierungslösung (vgl. Tabelle 2). PEG kann eine durch lange Ischämiezeiten ausgelöste osmotische Schwellung der Zelle verringern, die Lipid-Peroxidation der Zellmembran wird reduziert und verringert in der Phase der Eiskonservierung die Auskristallisation von intrazellulärem Wasser. Die Nierentubuli wurden vor den Folgen einer hypothermen Kältekonservierung geschützt (Hauet et al. 2002). Neuere Ergebnisse der gleichen Arbeitsgruppe zeigen, dass PEG die Nierenfunktionsparameter kälte konservierter Schweinenieren, die anschließend transplantiert wurden, entscheidend verbessert. Die zelluläre Integrität wird durch PEG stabilisiert, die Expression von MHC Klasse II Molekülen reduziert, die mit  $\text{CD4}^+$  T-Zellen interagieren und zu einer zellvermittelten immunologischen Nierenschädigung führen können. Zusätzlich fordern Hauet et al. die Zugabe von Trimetazidin in Kältekonservierungslösungen. Trimetazidine soll die mitochondriale Funktion verbessern, die ischämisch bedingte intrazelluläre Azidose vermindern und ebenfalls wie PEG, die Lipid- Peroxidation der Membrane unterbrechen. Das o.g. Effekte von PEG in unserem Modell der isoliert perfundierten Schlachthausniere zu besseren Funktionsparametern führten, konnte nicht gezeigt werden.

## 5. Zusammenfassung

Es existieren verschiedene Modelle mit denen Organe von Kleintieren isoliert perfundiert werden können. Die Ergebnisse sind nicht uneingeschränkt auf die Physiologie des Menschen übertragbar. Ein besserer Ansatz ist die Verwendung von Großtierorganen. Verglichen mit der menschlichen Niere besitzt beispielsweise die Schweineniere die histologisch größte Übereinstimmung. In der vorliegenden Arbeit wurde daher ein Modell entwickelt, mit dem Schlachthausnieren von Schweinen unter physiologisch stabilen Perfusionsbedingungen, in der sogenannte „steady-state“ Phase (pH-, pO<sub>2</sub>-, pCO<sub>2</sub>-, Hämatokrit, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> und Mg<sup>+</sup> im Plasma konstant) mit autologem Blut, extrakorporal und normotherm über einen längeren Zeitraum perfundiert werden können.

Die überwiegende Anzahl der perfundierten Schlachthausnieren befand sich infolge der langen Ischämie- und Konservierungszeiten in einem poly- und hypostenurischen akuten Nierenversagen (ANV). Die Zeitspanne zwischen der Tierschlachtung und der Explantation der Nieren (warme Ischämiedauer) betrug  $19 \pm 2,4$  min, die Zeit von der Kältekonservierung bis zum Anschluss an die Perfusionseinheit (kalte Ischämiedauer)  $5 \pm 0,5$  h.

Anhand verschiedener gemessener bzw. berechneter Funktionsparametern konnte der Verlauf eines akuten Nierenversagens während der 100 minütigen „steady-state“ Perfusion dargestellt werden. So zeigte beispielsweise die Medianstatistik für die tubuläre Natrium-Rückresorption deutlich erniedrigte Werte von  $0,5 - 0,9 \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100\text{g NG}$  als Ausdruck einer massiven Schädigung. Überraschenderweise zeigte sich keine Korrelation der tubulären Natrium-Rückresorption mit dem lysosomalen Marker  $\beta$ -NAG, der bei tubulären Nierenschäden freigesetzt wird. Der renal vaskuläre Widerstand mit Werten von  $0,33 - 0,34 \text{ mmHg} \cdot \text{min ml}^{-1}$  war während der gesamten Perfusionszeit deutlich erhöht sowie der renale Sauerstoffverbrauch mit Werten von  $3,0 - 4,1 \text{ ml/min}^{-1} \cdot 100\text{g NG}$  infolge der geringen tubulären Natrium-Rückresorption deutlich vermindert. Ebenso war die Clearance für Kreatinin mit Werten von  $4,2 - 7,6 \text{ ml min}^{-1} \cdot 100\text{g Nierengewicht}$  und für Sinistrin<sup>®</sup> (Inulin like) mit Werten von  $4,6 - 12 \text{ ml min}^{-1} \cdot 100\text{g Nierengewicht}$  infolge glomerulärer Schäden erniedrigt.

Erstmals wurde Sinistrin<sup>®</sup> mit der kommerziell nicht mehr erhältlichen Inuquant<sup>®</sup>-Methode (Fa. Fresenius, Linz, Österreich) im Plasma und Urin der isoliert perfundierten Schlachthausniere gemessen. Kreatinin wurde als Referenzwert mittels der Jaffé-Methode nachgewiesen. Kreatinin- und Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance Werte von sechs narkotisierten Schweinen dienten als Kontrollgruppe. Zur Validierung der Messgenauigkeit und Qualitätskontrolle

wurden photometrisch kommerziell erhältliche Sinistrin<sup>®</sup>-Standards und eigens angefertigte Verdünnungsreihen mit aufsteigenden Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentrationen gemessen.

Ebenso konnte erstmalig der Einfluss des poly- und hypostenurischen ANV der isoliert perfundierten Schlachthausniere auf die vollenzymatische Inuquant<sup>®</sup>-Methode zur Sinistrin<sup>®</sup>-Messung dargestellt werden. Photometrisch konnten anfangs im Plasma von 38/55 Nieren nur negative Extinktionswerte für Sinistrin<sup>®</sup> gemessen werden. Erst nach Änderung einzelner Arbeitsschritte der Messanleitung der Inuquant<sup>®</sup>-Methode zur Bestimmung der Sinistrin<sup>®</sup>-Konzentration im Plasma und im Urin der isoliert perfundierten Schlachthausniere konnten positive Extinktionswerte gemessen werden. Zum einen musste die Inkubationstemperatur und -zeit der Plasmaproben von 56 ° C auf 65 °C erhöht bzw. von 20 min auf 35 min verlängert werden, zum anderen war für eine vollständige Hydrolyse des Sinistrins<sup>®</sup> eine Erhöhung der Inulinase-Konzentration von 37,5 U auf 75 U erforderlich. Danach wurde bei 17/55 Nieren die Sinistrin<sup>®</sup>- und Kreatinin-Clearance mittels der klassischen Clearance-Formel berechnet und methodisch miteinander verglichen werden. Eine Erklärung für die anfänglich negativen Extinktionen der Sinistrin<sup>®</sup>-Messung liefern die im Zytoplasma lokalisierten, ubiquitär vorkommenden glykolytischen Enzyme Phosphoglukoisomerase und Phosphohexoisomerase, die bei fehlender Inaktivierung zu einem vorzeitigen Umsatz von Fruktose zu Fruktose-6-Phosphat und damit zu verfälschten Messwerten führen können. Vermutlich wurden, bedingt durch die langen Ischämie- und Konservierungszeiten, diese Enzyme vermehrt freigesetzt. Die von der Fa. Fresenius vorgegebenen Arbeitsschritte zur Sinistrin<sup>®</sup>-Messung durch die vollenzymatische Inuquant<sup>®</sup>-Methode waren auf das vorliegende Modell der isoliert perfundierten Schlachthausniere nicht übertragbar und mussten, wie beschrieben, durch weitere Arbeitsschritte modifiziert werden.

Bei dem Vergleich der Nierenfunktionsparameter einzelner Nieren zeigte die Urin-Osmolalität, die tubuläre Natriumexkretion, die intrazelluläre Kaliumfreisetzung oder der renale Gefäßwiderstand einen Zusammenhang zwischen dem Nativgewicht der Nieren nach Explantation, der prozentualen Gewichtszunahme der Nieren nach der hypothermen Nierenkonservierung und der Gewichtszunahme im Verlauf der „steady-state“ Perfusion. Ein „cut-off“ wurde bei einer Nierengewichtszunahme von prä- zu postperfusionem > 30 % gesetzt. Dieser ergab eine Einteilung der Nieren für Gruppe I mit einer definierten Gewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 % und für Gruppe II > 30 %. Verglichen wurden die beiden Gruppen mittels einer nichtparametrischen Varianzanalyse, die einen Vergleich der Nierenfunktionsparameter im Perfusionsverlauf in Abhängigkeit von der

Nierengewichtszunahme erlaubt. Es konnte gezeigt werden, dass ein geringes Nativgewicht und eine prozentual geringere Nierengewichtszunahme im Perfusionsverlauf bessere Nierenfunktionsparameter ergaben. In der Gruppe I zeigte sich bei einzelnen Nieren nahezu physiologische Werte beispielsweise für die tubuläre Natrium-Rückresorption mit Werten bis  $4,6 \text{ mmol min}^{-1} * 100 \text{ g NG}$ , für den renalen Sauerstoffverbrauch bis  $7,5 \text{ mmol min}^{-1} * 100 \text{ g NG}$  oder für die Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance mit Werten bis  $50 \text{ ml min}^{-1} * 100 \text{ g NG}$ .

Die vorgestellte Methode der normotherm mit autologem Blut isoliert perfundierten porcinen Schlachthausniere ermöglicht in einer physiologisch nahezu konstanten „steady-state“ Phase die Untersuchung verschiedener Fragestellungen zum Themenkomplex des akuten Nierenversagens.

## Abkürzungsverzeichnis:

<b>A</b>	arteriell
<b>ACE</b>	Angiotensin converting enzyme
<b>ADP</b>	Adenosin-5'-diphosphat
<b>ANV</b>	akutes Nierenversagen
<b>ARP</b>	arterieller renaler Perfusionsdruck
<b>ATP</b>	Adenosin-5'-triphosphat
<b>CL</b>	Clearance
<b>D</b>	Druck
<b>d</b>	Schichtdicke der Messküvette
<b>D-Gluconat-6-P</b>	D-Gluconat-6-phosphat
<b>UNaV</b>	Tubuläre Natrium-Exkretion
<b>F</b>	Verdünnungsfaktor
<b>FF</b>	Filtrationsfraktion
<b>Fructose-6-P</b>	D-Fructose-6-Phosphat
<b>G-6-P-DH</b>	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
<b>GFR</b>	glomeruläre Filtrationsrate
<b>Glucose-6-P</b>	Glucose-6-Phosphat
<b>Hb</b>	Hämoglobin
<b>fHB</b>	freies Hämoglobin
<b>HK</b>	Hexokinase
<b>HKT</b>	Hämatokrit
<b>HPLC</b>	High-Performance-Liquid-Chromatography
<i>i. v.</i>	intravenös
<b>Ka</b>	Kalium
<b>KOD</b>	Kolloidosmotischer Druck
<b>KO</b>	Körperoberfläche
<b>K</b>	Kreatinin
<b>KP</b>	Kreatinphosphat
<b>Max.</b>	Maximum
<b>MD</b>	Median
<b>Min.</b>	Minimum
<b>MW</b>	Mittelwert
<b>Na</b>	Natrium

<b>NG</b>	Nierengewicht
<b>β-NAG</b>	N-Acetyl-Galaktosaminidase
<b>NADP<sup>+</sup></b>	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
<b>NADPH<sup>+</sup>H<sup>+</sup></b>	reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
<b>P</b>	Partialdruck
<b>PEG</b>	Polyethylenglycol
<b>PFS</b>	Polyfructosan-S (syn.: Sinistrin <sup>®</sup> )
<b>PGI</b>	Phosphoglucose-Isomerase
<b>pH</b>	Wasserstoffionenkonzentration
<b>PU</b>	Proteinurie
<b>PV</b>	Probenvolumen
<b>RBF</b>	renaler Blutfluss
<b>RVD</b>	renal venöser Druck
<b>RVR</b>	renaler Gefäßwiderstand
<b>Q<sub>B</sub></b>	Volumenstrom
<b>SD</b>	Standardabweichung
<b>Sin</b>	Sinistrin <sup>®</sup>
<b>TGF</b>	Tubuloglomerulärer Feedback
<b>UV</b>	Harnvolumen
<b>v</b>	venös
<b>vgl.</b>	vergleiche
<b>VK</b>	Verteilungskoeffizient
<b>Vs.</b>	versus
<b>WAR</b>	Wiederauffindungsrate

## **Tabellenanhang**

Die Nummerierung der Nieren aus den Originalversuchs-Protokollen wurde in allen Tabellen beibehalten. A<sub>0</sub> nativ bedeutet in allen Tabellen eine Probenentnahme unmittelbar nach dem Schlachtvorgang der Tiere, A<sub>1</sub> präperfusionem eine Probe vor Anschluss der Niere an die Perfusionsapparatur, 20, 40, 60, 80 und 100 min während der „steady-state“ Perfusion.

**Tabelle 8:** Hämoglobin [g/l] im Plasma nativ, präperfusionem und zu den Perfusionzeitpunkten  
t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:	A0 nativ	A1 präperf.	A2 (20 min)	A3 (40 min)	A4 (60 min)	A5 (80 min)	A6 (100 min)
243	7	3,0	8,0	7,0	6,0	6,0	6,0
253	16	6,0	9,0	8,0	7,0	6,0	5,0
254	12	5,0	4,0	9,0	10,0	5,0	6,0
257	13,0	4,0	8,0	8,0	10,0	7,0	10,0
258	13,0	7,0	10,0	9,0	9,0	7,0	6,0
259	10,0	5,0	7,0	6,0	7,0	7,0	7,0
260	13,0	6,0	8,0	9,0	8,0	9,0	6,0
261	14,0	5,0	10,0	10,0	11,0	11,0	12,0
265	15,0	5,0	8,0	7,0	7,0	8,0	10,0
266	15,0	6,0	8,0	8,0	8,0	8,0	7,0
272	13,0	5,0	3,0	4,0	4,0	4,0	4,0
273	14,0	9,0	8,0	8,0	7,0	7,0	7,0
276	14,0	6,0	9,0	9,0	8,0	7,0	7,0
277	15,0	9,0	10,0	9,0	9,0	9,0	8,0
278	15,0	7,0	7,0	5,0	5,0	4,0	2,0
279	13,0	6,0	8,0	8,0	7	6,0	5,0
280	16,0	5,0	4,0	10,0	10,0	5,0	9,0
<b>MW</b>	<b>13,4</b>	<b>5,9</b>	<b>7,7</b>	<b>7,9</b>	<b>7,8</b>	<b>6,9</b>	<b>6,9</b>
<b>STABW</b>	<b>± 2,3</b>	<b>± 1,4</b>	<b>± 2,0</b>	<b>± 1,5</b>	<b>± 2,0</b>	<b>± 1,9</b>	<b>± 2,3</b>
<b>SEM</b>	<b>± 0,56</b>	<b>± 0,3</b>	<b>± 0,5</b>	<b>± 0,4</b>	<b>± 0,4</b>	<b>± 0,5</b>	<b>± 0,6</b>
<b>Median</b>	<b>14</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>7</b>

**Tabelle 9:** Hämoglobin Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

<b>MW</b>	<b>7,1</b>	<b>6,0</b>	<b>7,7</b>	<b>7,9</b>	<b>7,7</b>	<b>7,2</b>	<b>7,5</b>
<b>SEM</b>	<b>2,1</b>	<b>1,8</b>	<b>2,3</b>	<b>2,3</b>	<b>2,3</b>	<b>2,1</b>	<b>2,2</b>

**Tabelle 10:** Hämoglobin Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278,260,278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

<b>MW</b>	<b>6,6</b>	<b>5,8</b>	<b>7,9</b>	<b>8,0</b>	<b>8,1</b>	<b>6,4</b>	<b>6,0</b>
<b>SEM</b>	<b>2,6</b>	<b>2,3</b>	<b>3,2</b>	<b>3,2</b>	<b>3,3</b>	<b>2,6</b>	<b>2,4</b>

**Tabelle 11:** Tubuläres  $\beta$ -N-Acetylgalaktosaminidase im Urin [ $U\ l^{-1}$ ] zu den Perfusionszeitpunkten  $t = 20 - 100\ min$ , Niere im „steady-state“

<b>Abnahme: t-perf. : Nieren Nr.:</b>	<b>U2 (20min)</b>	<b>U3 (40min)</b>	<b>U4 (60min)</b>	<b>U5 (80min)</b>	<b>U6 (100min)</b>
<b>243</b>	106,0	99,0	50,0	34,0	29,0
<b>257</b>	112,0	100,0	50,0	34,0	31,0
<b>259</b>	91,0	39,0	73,0	95,0	158,0
<b>260</b>	38,0	108,0	130,0	136,0	110,0
<b>261</b>	38,0	25,0	15,0	14,0	16,0
<b>262</b>	77,0	81,0	46,0	37,0	28,0
<b>263</b>	53,0	80,0	63,0	60,0	65,0
<b>265</b>	97,0	75,0	49,0	15,0	28,0
<b>266</b>	143,0	181,0	245,0	66,0	23,0
<b>272</b>	34,0	18,0	15,0	13,0	36,0
<b>276</b>	257,0	83,0	32,0	18,0	19,0
<b>278</b>	103,0	154,0	56,0	41,0	61,0
<b>279</b>	41,0	41,0	99,0	78,0	57,0
<b>280</b>	35,0	49,0	58,0	65	57,0
<b>MW</b>	<b>87,6</b>	<b>81,0</b>	<b>70,2</b>	<b>50,6</b>	<b>51,3</b>
<b>STABW</b>	<b>± 60,0</b>	<b>± 46,7</b>	<b>± 58,6</b>	<b>± 35,6</b>	<b>± 39,6</b>
<b>SEM</b>	<b>± 15,5</b>	<b>± 12,1</b>	<b>± 15,2</b>	<b>± 9,2</b>	<b>± 10</b>
<b>Median</b>	<b>84</b>	<b>80,5</b>	<b>53</b>	<b>39</b>	<b>33,5</b>

**Tabelle 12:** Tubuläres  $\beta$ -N-Acetylgalaktosaminidase im Urin [ $\text{U l}^{-1}$ ] einer in-vivo Kontrollgruppe von sechs Schweinen (zeitlich unabhängige Abnahmen)

<b>In-vivo Kontrolle Schweine-Urin</b>	<b>Tier # 1</b>	<b># 2</b>	<b># 3</b>	<b># 4</b>	<b># 5</b>	<b># 6</b>
	17	29	13	45	4	5
	16	29	13	45	5	6
	16	27	13	44	5	5
	17	24	13	43	5	6
	16	13	13	45	5	6
<b>MW</b>	<b>16,3</b>	<b>24,6</b>	<b>13</b>	<b>44,5</b>	<b>4,9</b>	<b>5,6</b>
<b>STABW</b>	<b><math>\pm 0,6</math></b>	<b><math>\pm 6,8</math></b>	<b><math>\pm 0,28</math></b>	<b><math>\pm 0,7</math></b>	<b><math>\pm 0,23</math></b>	<b><math>\pm 0,45</math></b>
<b>SEM</b>	<b><math>\pm 0,27</math></b>	<b><math>\pm 3</math></b>	<b><math>\pm 0,12</math></b>	<b><math>\pm 0,31</math></b>	<b><math>\pm 0,1</math></b>	<b><math>\pm 0,2</math></b>
<b>Median</b>	<b>16</b>	<b>27</b>	<b>13</b>	<b>45</b>	<b>5</b>	<b>6</b>

**Tabelle 13:** Tubuläres  $\beta$ -N-Acetylgalaktosaminidase im Urin Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280) Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem  $< 30\%$

<b>MW</b>	<b>93,7</b>	<b>67,9</b>	<b>70,8</b>	<b>44,4</b>	<b>47,2</b>
<b>SEM</b>	<b>31,2</b>	<b>22,6</b>	<b>23,6</b>	<b>14,7</b>	<b>15,7</b>

**Tabelle 14:** Tubuläres  $\beta$ -N-Acetylgalaktosaminidase im Urin Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem  $> 30\%$

<b>MW</b>	<b>76,7</b>	<b>104,6</b>	<b>69,1</b>	<b>61,8</b>	<b>59,2</b>
<b>SEM</b>	<b>34,3</b>	<b>46,8</b>	<b>30,9</b>	<b>27,6</b>	<b>26,5</b>

**Tabelle 15:** Proteinkonzentration [g dl<sup>-1</sup>] im Urin präperfusionem und zu den Perfusionszeitpunkten t = 40 min und 100 min, Niere im „steady-state“

<b>Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:</b>	<b>A0 nativ</b>	<b>A1 präperf.</b>	<b>A3 (40 min)</b>	<b>A6 (100 min)</b>
243	3,8	4,1	3,6	2,9
253	7,5	4,8	2,6	1,7
254	7	4,3	3,7	5,6
257	7,1	3,8	3	4,1
258	7	6,2	3,5	2,2
259	6,4	6,3	4	4,6
260	6,4	5,8	4,1	3,2
261	6,8	4,6	3,7	4,9
265	1,3	3,5	2,1	1,6
266	5,7	4,7	2,6	2,6
272	6,4	4,5	3	2,7
273	6,8	9,2	2,3	2,1
276	7,2	6,6	3,1	2,4
277	7	9,8	2,5	2,1
278	6,4	7,5	1,6	1,3
279	6,5	5,9	2,4	2,5
280	7,3	3	3,3	2,5
<b>MW</b>	<b>6,3</b>	<b>5,6</b>	<b>3,0</b>	<b>2,9</b>
<b>STABW</b>	<b>± 1,5</b>	<b>± 1,9</b>	<b>± 0,7</b>	<b>± 1,2</b>
<b>SEM</b>	<b>± 0,4</b>	<b>± 0,5</b>	<b>± 0,2</b>	<b>± 0,3</b>
<b>Median</b>	<b>6,8</b>	<b>4,8</b>	<b>3</b>	<b>2,5</b>

**Tabelle 16:** Albuminkonzentration [ $\text{g dl}^{-1}$ ] im Urin präperfusionem und zu den Perfusionszeitpunkten  $t = 40$  und  $100$  min, Niere im steady-state

<b>Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:</b>	<b>A0 nativ</b>	<b>A1 präperf.</b>	<b>A3 (40 min)</b>	<b>A6 (100 min)</b>
243	2,1	2,2	2	1,6
253	4	2,5	1,4	0,9
254	3,9	2,2	2,1	3
257	3,7	1,9	1,6	2,1
258	3,7	3,3	1,8	1,2
259	3,9	3,8	2,8	3,3
260	4	3,6	2,9	2,4
261	3,8	2,6	2,1	2,7
265	4,2	2,1	1,8	1,1
266	2,1	2,3	1,3	1
272	2,1	2,3	1,3	1,6
273	4	2,8	1,7	1,7
276	4,1	5,7	1,4	1,3
277	3,9	4,5	1,3	1,1
278	4,8	5,4	0,9	1,5
279	5	3,5	1,5	1,4
280	4,5	2,1	2,3	1,7
<b>MW</b>	<b>3,8</b>	<b>3,1</b>	<b>1,8</b>	<b>1,7</b>
<b>STABW</b>	<b>± 0,9</b>	<b>± 1,2</b>	<b>± 0,5</b>	<b>± 0,7</b>
<b>SEM</b>	<b>± 0,2</b>	<b>± 0,3</b>	<b>± 0,1</b>	<b>± 0,2</b>
<b>Median</b>	<b>3,9</b>	<b>2,6</b>	<b>1,7</b>	<b>1,6</b>

**Tabelle 17:** Plasmaosmolalität [mOsmol kg<sup>-1</sup>] nativ, präperfusionem und zu den Perfusionszeitpunkten t-perf = 20 bis 100 min, Niere ab t = 20 min im „steady-state“

Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:	A0 nativ	A1 präperf.	A2 (20 min)	A3 (40 min)	A4 (60 min)	A5 (80 min)	A6 (100 min)
243	318	276	280	284	287	292	294
253	326	294	295	294	293	294	296
254	326	291	298	296	296	297	299
257	322	313	316	316	319	319	323
258	322	287	291	291	290	291	292
259	335	297	305	301	305	303	304
260	327	296	299	300	301	304	302
261	326	298	300	305	309	311	315
265	330	288	285	286	287	289	292
266	330	288	285	286	287	289	292
272	331	285	282	281	282	281	280
273	326	286	284	284	286	287	287
276	319	277	277	278	280	280	282
277	319	285	282	282	282	282	285
278	309	280	282	279	277	277	277
279	307	280	281	280	280	282	284
280	330	314	279	287	292	300	284
MW	323,7	290,3	289,5	290,0	291,4	292,8	293,4
STABW	± 7,5	± 11,0	± 10,9	± 10,6	± 11,5	± 11,7	± 12,4
SEM	± 1,8	± 2,7	± 2,7	± 2,6	± 2,8	± 2,8	± 3,0
Median	326	288	285	286	287	291	292

**Tabelle 18:** Plasmaosmolalität Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

MW	325,2	288,9	285,8	287,2	289,5	291,4	291,4
SEM	102,8	91,4	90,4	90,8	91,5	92,1	92,1

**Tabelle 19:** Plasmaosmolalität Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

MW	322,0	293,5	296,8	296,0	296,0	297,0	298,2
SEM	131,5	119,8	121,2	120,8	120,8	121,2	121,7

**Tabelle 20:** Urinosmolalität [ $\text{mOsmol kg}^{-1}$ ] nativ, präperfusionem und zu den Perfusionszeitpunkten t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

Abnahme: t-perf. : Nieren Nr.:	U2 (20min)	U3 (40min)	U4 (60min)	U5 (80min)	U6 (100min)
243	205	172	162	135	139
253	419	396	395	297	214
254	302	273	254	294	287
257	312	295	269	253	244
258	357	352	318	257	213
259	308	260	263	263	245
260	329	336	329	290	291
261	253	205	277	268	275
265	319	266	229	250	239
266	333	301	288	252	246
272	284	260	174	236	263
273	237	247	233	223	226
276	256	186	202	180	163
277	235	219	231	215	214
278	315	280	221	245	251
279	307	214	178	147	135
280	262	115	108	82	69
MW	296,1	257,5	243,0	228,6	218,5
STABW	± 51,8	± 69,5	± 69,3	± 60,0	± 60,0
SEM	± 12,6	± 16,9	± 16,8	± 14,6	± 14,6
Median	307	260	233	250	239

**Tabelle 21:** Urinosmolalität Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280) Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

MW	272,6	222,3	213,2	204,6	201,3
SEM	82,2	67,0	64,3	61,7	60,7

**Tabelle 22:** Urinosmolalität Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

MW	339,0	322,0	297,7	272,7	250,0
SEM	138,4	131,5	121,5	111,3	102,1

**Tabelle 23:** Kreatinin-Clearance [ $\text{ml min}^{-1} \cdot 100\text{g Nierengewicht}$ ] zu den Perfusionszeitpunkten  $t = 20$  bis  $100$  min, Niere im „steady-state“

<b>GFR t-perf. : Nieren Nr.:</b>	<b>(20min)</b>	<b>(40min)</b>	<b>(60min)</b>	<b>(80min)</b>	<b>(100min)</b>
243	36,4	36,2	23,3	28,9	30,6
253	8,9	12,0	12,0	13,1	12,0
254	10,1	10,3	3,7	4,4	2,3
257	11,0	6,8	6,5	5,8	4,7
258	1,2	1,5	4,1	0,0	4,2
259	18,1	15,8	18,1	6,1	10,4
260	6,7	3,9	14,3	7,2	8,7
261	10,1	14,1	12,9	12,2	10,3
265	13,5	15,8	16,4	12,7	14,4
266	10,5	9,7	10,8	15,2	10,1
272	0,9	0,9	0,6	0,8	0,4
273	4,4	3,1	3,1	2,1	1,8
276	0,9	4,9	5,0	3,9	3,3
277	4,6	1,5	1,9	2,0	2,1
278	7,6	0,8	1,0	0,9	1,3
279	4,9	4,8	2,5	4,0	3,6
280	2,7	2,4	1,6	2,0	1,2
<b>MW</b>	<b>9,0</b>	<b>8,5</b>	<b>8,1</b>	<b>7,1</b>	<b>7,1</b>
<b>STABW</b>	<b>8,5</b>	<b>8,9</b>	<b>7,0</b>	<b>7,4</b>	<b>7,5</b>
<b>SEM</b>	<b>2,1</b>	<b>2,2</b>	<b>1,7</b>	<b>1,8</b>	<b>1,8</b>
<b>Median</b>	<b>7,6</b>	<b>4,9</b>	<b>5</b>	<b>4,4</b>	<b>4,2</b>

**Tabelle 24:** Kreatinin-Clearance Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280) Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem  $< 30\%$

<b>MW</b>	9,7	9,9	8,7	8,2	8,0
<b>SEM</b>	2,9	3,0	2,6	2,5	2,4

**Tabelle 25:** Kreatinin-Clearance Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem  $> 30\%$

<b>MW</b>	7,6	5,9	6,9	5,2	5,5
<b>SEM</b>	3,1	2,4	2,8	2,1	2,3

**Tabelle 26:** Sinistrin<sup>®</sup>-Clearance [ $\text{ml min}^{-1} \cdot 100\text{g Nierengewicht}$ ] zu den Perfusionszeitpunkten  $t = 20 - 100 \text{ min}$ , Niere im „steady-state“

<b>GFR t-perf. : Nieren Nr.:</b>	<b>(20min)</b>	<b>(40min)</b>	<b>(60min)</b>	<b>(80min)</b>	<b>(100min)</b>
243	48,3	50,3	35,6	38,8	27,6
253	21,8	8,4	12,7	22,3	24,4
254	22,4	11,1	4,8	4,1	1,8
257	5,2	11,7	1,4	0,9	0,8
258	2,8	1,6	2,6	0	10,2
259	20,6	12,2	13,2	4,6	12,5
260	19,9	6,2	16,8	16,7	9,3
261	12,3	5,1	10,2	9,5	6,1
265	40,7	38,8	22,8	32,6	22,9
266	2,3	2,9	6,9	2,2	0,8
272	0,4	0,5	0,9	0,6	0,2
273	3,8	2,8	3	2,5	1,6
276	2,3	49,1	60,1	15,2	19,5
277	7,6	2,2	2,2	1,3	1,9
278	19,6	2	2,2	1,2	2,4
279	15,8	7,6	5,3	11,2	6,7
280	6,2	5,4	2,8	5,1	2,8
<b>MW</b>	<b>14,8</b>	<b>12,8</b>	<b>12</b>	<b>9,9</b>	<b>8,9</b>
<b>STABW</b>	<b>13,6</b>	<b>16,4</b>	<b>15,4</b>	<b>11,7</b>	<b>9,2</b>
<b>SEM</b>	<b>3,3</b>	<b>3,9</b>	<b>3,7</b>	<b>2,8</b>	<b>2,2</b>
<b>Median</b>	<b>12</b>	<b>6,2</b>	<b>5,3</b>	<b>4,6</b>	<b>6,1</b>

**Tabelle 27:** Freies Plasmahämoglobin [mg dl<sup>-1</sup>] nativ, präperfusionem und zu den Perfusionszeitpunkten t = 40 min und 100 min, Niere im “steady-state“

<b>Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:</b>	<b>A0 nativ</b>	<b>A1 präperf.</b>	<b>A3 (40 min)</b>	<b>A6 (100 min)</b>
<b>243</b>	5	12	20	25
<b>253</b>	24	32	14	12
<b>254</b>	17	24	13	23
<b>257</b>	22	15	19	36
<b>258</b>	26	26	27	20
<b>259</b>	18	18	16	30
<b>260</b>	19	22	17	15
<b>261</b>	17	22	17	23
<b>265</b>	40	20	9	13
<b>266</b>	39	31	18	18
<b>272</b>	16	21	35	46
<b>273</b>	19	28	22	28
<b>276</b>	18	23	42	42
<b>277</b>	19	34	54	58
<b>278</b>	21	31	20	18
<b>279</b>	18	29	20	23
<b>280</b>	45	27	48	35
<b>MW</b>	<b>22,5</b>	<b>24,4</b>	<b>24,2</b>	<b>27,4</b>
<b>STABW</b>	<b>± 10,0</b>	<b>± 6,2</b>	<b>± 12,9</b>	<b>± 12,6</b>
<b>SEM</b>	<b>± 2,4</b>	<b>± 1,5</b>	<b>± 3,1</b>	<b>± 3,1</b>
<b>Median</b>	<b>19</b>	<b>24</b>	<b>20</b>	<b>23</b>

**Tabelle 28:** Tubuläre Natrium-Exkretion (UnaV; [mmol min<sup>-1</sup> \*100g Nierengewicht] zu den Perfusionszeitpunkten t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

Abnahme: t-perf. : Nieren Nr.:	A2 (20min)	A3 (40min)	A4 (60min)	A5 (80min)	A6 (100min)
243	0,35	0,44	0,14	0,12	0,13
253	0,04	0,03	0,02	0,04	0,06
254	0,17	0,10	0,02	0,001	0,001
257	0,43	0,16	0,03	0,02	0,02
258	0,04	0,01	0,02	0,04	0,05
259	0,21	0,12	0,09	0,02	0,03
260	0,07	0,01	0,02	0,01	0,01
261	0,22	0,38	0,75	0,66	0,41
265	0,14	0,16	0,22	0,71	0,54
266	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02
272	0,03	0,03	0,00	0,00	0,01
273	0,19	0,20	0,18	0,13	0,13
276	0,01	0,06	0,06	0,06	0,04
277	0,12	0,02	0,02	0,02	0,02
278	0,50	0,04	0,07	0,07	0,10
279	0,19	0,05	0,02	0,04	0,06
280	0,13	0,08	0,03	0,04	0,05
MW	<b>0,17</b>	<b>0,11</b>	<b>0,10</b>	<b>0,12</b>	<b>0,1</b>
± STABW	<b>0,14</b>	<b>0,13</b>	<b>0,18</b>	<b>0,22</b>	<b>0,15</b>
± SEM	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>	<b>0,04</b>
Median	<b>0,16</b>	<b>0,06</b>	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>

**Tabelle 29:** Tubuläre Natrium-Exkretion Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280) Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem <30%

MW	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,2</b>	<b>0,1</b>
SEM	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>	<b>0,04</b>

**Tabelle 30:** Tubuläre Natrium-Exkretion Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem >30 %

MW	<b>0,2</b>	<b>0,1</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,04</b>
SEM	<b>0,09</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>

**Tabelle 31:** Tubuläre Natrium Rückresorption [ $\text{mmol min}^{-1} * 100\text{g Nierengewicht}$ ] im Urin zu den Perfusionzeitpunkten  $t\text{-perf} = 20 - 100 \text{ min}$ , Niere im „steady-state“

Abnahme: t-perf. : Nieren Nr.:	A2 (20min)	A3 (40min)	A4 (60min)	A5 (80min)	A6 (100min)
243	4,6	4,6	3,1	3,9	4,2
253	1,2	1,7	1,6	1,8	1,7
254	1,2	1,4	0,5	0,6	0,3
257	1,2	0,9	0,9	0,9	0,70
258	0,1	0,2	0,5	0,04	0,5
259	2,4	2,1	2,5	0,9	1,5
260	0,9	0,6	2,0	1,0	1,2
261	1,2	1,7	1,1	1,1	1,2
265	1,7	2,0	2,0	1,1	1,5
266	1,4	1,3	1,5	2,1	1,4
272	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
273	0,4	0,2	0,2	0,2	0,1
276	0,1	0,6	0,6	0,4	0,4
277	0,5	0,2	0,2	0,2	0,3
278	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1
279	0,5	0,6	0,3	0,5	0,4
280	0,3	0,3	0,2	0,3	0,1
MW	1,1	1,1	1,0	0,9	0,9
± STABW	1,1	1,1	0,9	1,0	1,0
± SEM	0,3	0,9	0,2	0,2	0,3
Median	0,9	0,6	0,6	0,6	0,5

**Tabelle 32:** Tubuläre Natrium Rückresorption Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259,261,265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280) Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

MW	1,2	1,2	1,1	1,0	1,0
SEM	0,36	0,38	0,32	0,30	0,31

**Tabelle 33:** Tubuläre Natrium Rückresorption Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278,260,278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

MW	0,9	0,8	0,9	0,7	0,8
SEM	0,35	0,33	0,38	0,30	0,31

**Tabelle 34:** Sauerstoffverbrauch [ $\text{ml min}^{-1} * 100 \text{ g Nierengewicht}$ ] zu den Perfusionszeitpunkten t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

Abnahme: t-perf. : Nieren Nr.:	A2 (20min)	A3 (40min)	A4 (60min)	A5 (80min)	A6 (100min)
243	7,5	4,5	3,4	4,1	4,5
253	3,6	4,8	1,5	2,5	3,7
254	5,2	3,6	3,1	2,5	0,1
257	1,4	3,2	3,2	2,7	2,6
258	3,4	3,1	3,0	2,6	3,1
259	5,0	3,4	3,0	3,0	3,3
260	5,7	4,4	4,2	4,0	4,2
261	1,3	1,2	0,4	1,4	1,8
265	3,5	3,6	4,5	3,0	2,9
266	3,7	3,3	4,1	3,8	3,1
272	1,8	1,7	1,5	1,2	1,6
273	4,4	4,1	4,2	3,1	3,2
276	4,9	4,9	5,1	4,9	4,6
277	5,1	6,8	5,5	5,3	6,6
278	2,5	2,9	2,7	1,0	2,2
279	4,3	5,0	3,0	3,3	3,4
280	5,8	3,5	3,1	2,4	2,7
MW	4,1	3,8	3,3	3,0	3,2
± STABW	1,7	1,3	1,3	1,2	1,4
± SEM	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
Median	4,3	3,6	3,1	3	3,1

**Tabelle 35:** Sauerstoffverbrauch Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259,261,265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280) Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

MW	4,3	3,8	3,4	3,2	3,4
SEM	1,30	1,15	1,04	0,97	1,03

**Tabelle 36:** Sauerstoffverbrauch Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278,260,278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

MW	3,6	3,7	3,0	2,6	2,7
SEM	1,48	1,50	1,20	1,14	1,08

**Tabelle 37:** Warme und kalte Ischämie-Dauer von 17 Nieren

<b>Nieren Nr.:</b>	<b>warme Ischämie in min</b>	<b>kalte Ischämie in Stunden</b>
243	15	5,7
253	15	5,7
254	22	4,5
257	22	4,5
258	20	5,4
259	20	5,3
260	18	4,5
261	20	4,8
265	18	4,9
266	18	4,5
272	22	5,5
273	20	4,5
276	18	4,9
277	18	4,9
278	22	4,5
279	22	4,5
280	23	4,6
<b>MW</b>	<b>19</b>	<b>5</b>
<b>STABW</b>	<b>± 2,4</b>	<b>± 0,5</b>
<b>SEM</b>	<b>± 2</b>	<b>± 0,5</b>
<b>Median</b>	<b>20</b>	<b>4,8</b>

**Tabelle 38:** Nierengewicht nativ, prä- und postperfusionem von 17 Nieren

<b>Nieren Nr.</b>	<b>nativ in g</b>	<b>präperfusionem in g</b>	<b>postperfusionem in g</b>
243	95	105	134
253	250	295	409
254	260	300	416
257	240	302	437
258	215	274	400
259	190	230	305
260	185	216	302
261	185	228	281
265	182	204	261
266	180	227	279
272	180	247	274
273	170	247	286
276	190	317	415
277	153	342	443
278	170	240	358
279	190	270	347
280	156	206	254
<b>MW</b>	<b>187</b>	<b>250</b>	<b>329</b>
<b>STABW</b>	<b>± 39</b>	<b>± 55</b>	<b>± 83</b>
<b>SEM</b>	<b>± 9</b>	<b>± 13</b>	<b>± 20</b>
<b>Median</b>	<b>185</b>	<b>247</b>	<b>305</b>

**Tabelle 39:** Arterieller renaler Perfusionsdruck (ARP) in mmHg zu den Perfusionszeitpunkten t = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

Messung: t-perf. : Nieren Nr.:	A 2 (20min)	A 3 (40min)	A 4 (60min)	A 5 (80min)	A 6 (100min)
243	112	90	77	100	99
253	105	100	102	93	95
254	106	98	95	98	101
257	99	100	90	102	92
258	102	102	100	108	98
259	104	95	96	93	97
260	83	92	91	90	96
261	113	107	102	101	100
265	95	102	99	97	97
266	115	123	120	113	111
272	115	102	97	96	94
273	120	104	93	93	90
276	108	117	113	113	103
277	97	98	97	96	94
278	105	117	124	124	120
279	110	101	95	95	92
280	108	101	99	97	99
MW	105	102	99	100	98
STABW	± 9	± 9	± 11	± 9	± 7
SEM	± 2	± 2	± 2	± 2	± 2
Median	106	101	97	97	97

**Tabelle 40:** Renalvenöser Druck (RVD) in mmHg zu den Perfusionszeitpunkten

t

= 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

Messung: t-perf. : Nieren Nr.:	V 2 (20min)	V 3 (40min)	V 4 (60min)	V 5 (80min)	V 6 (100min)
243	7	7	6	7	8
253	6	6	6	4	5
254	16	17	16	17	17
257	9	10	8	7	6
258	19	17	18	20	10
259	7	7	8	7	7
260	13	12	15	12	10
261	7	7	7	7	7
265	7	7	7	7	7
266	7	10	7	7	7
272	7	6	6	8	7
273	6	6	6	7	6
276	8	5	9	7	8
277	7	6	6	11	10
278	10	7	7	7	7
279	7	7	7	8	8
280	7	7	7	7	7
MW	8	8	8	8	8
STABW	± 3,7	± 3,7	± 3,8	± 4,1	± 2,7
SEM	2,1	2,1	2,1	2,1	2
Median	7	7	7	7	7

**Tabelle 41:** Renalvenöser Druck Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259,261,265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280) Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

MW	7,0	6,8	6,9	7,5	7,5
SEM	2,1	2,1	2,1	2,3	2,2

**Tabelle 42:** Renalvenöser Druck Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278,260,278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

MW	12,2	11,5	11,7	11,2	9,2
SEM	5,0	4,7	4,8	4,6	3,7

**Tabelle 43:** Perfusionsfluß (QB) in ml min<sup>-1</sup> zu den Perfusionszeitpunkten t= 20 - 100 min,  
Niere im „steady-state“

Nieren-Nr.:	t.-perf. in (20min)	(40min)	(60min)	(80min)	(100min)
243	280	280	280	340	340
253	310	310	310	310	310
254	300	300	300	300	300
257	320	320	320	320	320
258	260	260	260	260	360
259	360	360	360	360	240
260	240	260	260	260	60
261	80	100	120	140	160
265	300	320	300	320	320
266	240	260	240	260	240
272	140	140	140	140	140
273	220	220	220	220	220
276	280	280	280	280	280
277	200	200	200	200	200
278	320	320	320	320	320
279	320	320	320	320	320
280	220	220	220	220	220
MW	243	248	250	252	227
STABW	± 79,9	± 77,9	± 74,6	± 71,6	± 79,7
SEM	± 19,4	± 18,9	± 18,1	± 17,4	± 19,3
Median	280	280	280	280	280

**Tabelle 43:** Perfusionsfluß Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259,261,265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30%

MW	240,0	245,5	243,6	254,5	243,6
SEM	72,4	74,0	73,5	76,7	73,5

**Tabelle 44:** Perfusionsfluß Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

MW	291,7	295,0	295,0	295,0	278,3
SEM	119,1	120,4	120,4	120,4	113,6

**Tabelle 45:** Renaler Gefäßwiderstand [mmHg\*min ml<sup>-1</sup> \*100g Nierengewicht] zu den Perfusionszeitpunkten t = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

t-perf. : Nieren Nr.:	(20min)	(40min)	(60min)	(80min)	(100min)
243	0,38	0,31	0,25	0,27	0,27
253	0,32	0,30	0,31	0,29	0,29
254	0,30	0,27	0,26	0,27	0,28
257	0,28	0,28	0,26	0,30	0,27
258	0,32	0,34	0,34	0,34	0,27
259	0,24	0,24	0,24	0,25	0,29
260	0,33	0,29	0,30	0,33	0,80
261	0,84	0,67	0,57	0,56	0,47
265	0,29	0,30	0,29	0,28	0,29
266	0,44	0,48	0,47	0,44	0,43
272	0,78	0,70	0,64	0,64	0,63
273	0,52	0,44	0,40	0,39	0,39
276	0,38	0,39	0,37	0,37	0,34
277	0,54	0,46	0,45	0,45	0,44
278	0,31	0,33	0,36	0,36	0,35
279	0,32	0,29	0,28	0,27	0,27
280	0,45	0,42	0,41	0,40	0,41
<b>MW</b>	<b>0,41</b>	<b>0,38</b>	<b>0,36</b>	<b>0,36</b>	<b>0,38</b>
<b>± STABW</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>
<b>± SEM</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
<b>Median</b>	<b>0,33</b>	<b>0,33</b>	<b>0,34</b>	<b>0,34</b>	<b>0,34</b>

**Tabelle 46:** Renaler Gefäßwiderstand Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

<b>MW</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,2</b>	<b>0,2</b>	<b>0,2</b>
<b>SEM</b>	<b>0,09</b>	<b>0,08</b>	<b>0,07</b>	<b>0,07</b>	<b>0,07</b>

**Tabelle 47:** Renaler Gefäßwiderstand Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

<b>MW</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,2</b>
<b>SEM</b>	<b>0,06</b>	<b>0,06</b>	<b>0,06</b>	<b>0,06</b>	<b>0,08</b>

**Tabelle 48:** Hämatokrit [%] im Plasma in nativ, präperfusionem und zu den Perfusionzeitpunkten t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

<b>Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:</b>	<b>A0 nativ</b>	<b>A1 präperf.</b>	<b>A2 (20 min)</b>	<b>A3 (40 min)</b>	<b>A4 (60 min)</b>	<b>A5 (80 min)</b>	<b>A6 (100 min)</b>
243	22,0	23,0	25,0	22,0	20,0	28,0	19,0
253	52,0	39,0	28,0	26,0	22,0	20,0	17,0
254	37,0	30,0	27,0	28,0	34,0	31,0	34,0
257	41,0	41,0	27,0	26,0	30,0	24,0	32,0
258	42,0	41,0	33,0	31,0	28,0	23,0	20,0
259	34,0	35,0	23,0	21,0	21,0	23,0	23,0
260	42,0	40,0	27,0	28,5	25,0	29,0	21,0
261	44,0	35,0	31,0	31,0	35,0	35,0	38,0
265	47,0	32,0	26,0	23,0	22,0	25,0	20,0
266	47,0	38,0	27,0	27,0	25,0	25,0	23,0
272	42,0	32,0	21,0	27,0	26,0	27,0	26,0
273	46,0	55,0	27,0	24,0	23,0	21,0	23,0
276	44,0	41,0	29,0	27,0	25,0	24,0	22,0
277	50,0	56,0	31,0	29,0	29,0	30,0	26,0
278	47,0	44,0	22,0	17,0	15,0	13,0	7,0
279	41	39,0	24,0	27,0	21,0	18,0	16,0
280	54	33,0	24,0	31,0	33,0	29,0	27,0
<b>MW</b>	<b>43,0</b>	<b>38,5</b>	<b>26,6</b>	<b>26,2</b>	<b>25,7</b>	<b>25,0</b>	<b>21,9</b>
<b>STABW</b>	<b>±7,1</b>	<b>±7,9</b>	<b>±3,2</b>	<b>±3,7</b>	<b>±5,2</b>	<b>±5,1</b>	<b>±8,9</b>
<b>SEM</b>	<b>± 1,8</b>	<b>± 2,0</b>	<b>± 0,8</b>	<b>± 0,92</b>	<b>± 1,3</b>	<b>± 1,3</b>	<b>± 2,2</b>
<b>Median</b>	<b>44</b>	<b>39</b>	<b>27</b>	<b>27</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>23</b>

**Tabelle 49:** Filtrationsfraktion [%] /100 g Nierengewicht zu den Perfusionzeitpunkten t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:	A2 (20 min)	A3 (40 min)	A4 (60 min)	A5 (80 min)	A6 (100 min)
243	6,4	6,7	10,7	9,3	10,0
253	4,0	3,1	3,2	3,0	3,4
254	3,2	3,1	7,8	6,9	13
257	3,7	6,0	6,0	7,2	8,0
258	31,2	25	9,9	11,6	10,6
259	4,2	5,0	4,3	12,5	7,4
260	7,6	12,8	4,0	7,5	6,9
261	1,2	1,1	1,5	1,9	2,5
265	5,0	4,7	4,6	5,7	5,4
266	5,2	5,6	5,1	3,7	5,6
272	37,3	34,7	53,4	38,5	79,2
273	12,7	18,5	18,8	28,4	33,2
276	58,2	11,5	11,7	15,4	18,5
277	12,8	40,2	32,3	30,1	30,5
278	11,3	11,7	9,7	10,1	7,7
279	13,7	13,5	27,7	18	20,5
280	22,8	23,4	34,4	28,6	50,4
MW	14,1	13,3	14,4	14	18,4
STABW	15,2	11,5	14,3	11	20,2
SEM	3,6	2,8	3,4	2,6	4,9
Median	7,6	11,5	9,7	10,1	10

**Tabelle 50:** Filtrationsfraktion Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

MW	16,3	15,0	18,6	17,5	23,9
SEM	4,9	4,5	5,6	5,3	7,2

**Tabelle 51:** Filtrationsfraktion Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

MW	10,17	27,95	21,40	23,00	19,82
SEM	4,15	11,41	8,74	9,39	8,09

**Tabelle 52:** Harnvolumen [UV; ml/min/100 g Nierengewicht] zu den Perfusionszeitpunkten t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:	A2 (20 min)	A3 (40 min)	A4 (60 min)	A5 (80 min)	A6 (100 min)
243	4,4	5,74	2,21	2,26	2,21
253	0,50	0,40	0,34	0,60	0,90
254	1,86	1,15	0,29	0,16	0,12
257	0,63	1,40	1,77	1,83	1,88
258	0,34	0,14	0,28	0,47	0,67
259	2,14	1,39	1,18	0,29	0,39
260	0,84	0,16	0,38	0,19	0,23
261	2,61	1,62	0,41	0,23	0,16
265	1,50	1,92	2,55	6,48	4,62
266	0,27	0,29	0,28	0,26	0,26
272	0,31	0,28	0,22	0,14	0,06
273	1,81	1,71	1,71	1,29	1,24
276	0,11	1,00	1,05	1,00	0,79
277	1,37	0,31	0,29	0,25	0,29
278	3,82	0,38	0,71	0,68	0,97
279	1,77	0,74	0,42	0,97	1,26
280	1,70	1,25	0,77	0,93	0,96
MW	1,5	1,2	0,9	1,1	1,0
STABW	1,2	1,3	0,7	1,5	1,1
SEM	0,37	0,28	0,21	0,26	0,24
Median	1,5	1	0,4	0,6	0,8

**Tabelle 53:** Harnvolumen Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

MW	1,6	1,5	1,0	1,3	1,1
SEM	0,49	0,45	0,30	0,39	0,34

**Tabelle 54:** Harnvolumen Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

MW	1,3	0,6	0,6	0,7	0,8
SEM	0,54	0,25	0,26	0,27	0,32

**Tabelle 55:** Kaliumkonzentration im Plasma [mmol/l] nativ, präperfusionem und zu den Perfusions-zeitpunkten t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

<b>Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:</b>	<b>A0 nativ</b>	<b>A1 präperf.</b>	<b>A2 (20 min)</b>	<b>A3 (40 min)</b>	<b>A4 (60 min)</b>	<b>A5 (80 min)</b>	<b>A6 (100 min)</b>
243	4,0	3,6	5,0	4,9	4,5	4,4	4,7
253	8,1	3,8	6,2	5,9	5,3	4,8	5,0
254	7,0	3,9	6,2	5,7	5,4	5,2	5,3
257	6,8	4,3	7,5	7,6	7,0	6,8	7,0
258	6,4	4,4	6,8	7,4	6,7	6,6	6,4
259	6,2	4,1	5,1	4,9	4,3	4,3	4,6
260	6,3	4,2	6,2	6,2	5,9	5,8	5,9
261	6,8	4,1	6,5	6,9	6,2	6,1	6,2
265	7,2	5,3	4,9	4,5	4,2	3,6	3,5
266	4,5	5,9	5,7	5,8	5,2	4,9	4,9
272	6,4	4,1	4,4	4,5	4,5	4,5	4,6
273	7,1	3,8	4,1	4,1	4,2	4,2	4,2
276	6,0	4,0	4,0	4,1	4,0	4,0	4,0
277	7,7	6,0	4,0	4,2	4,0	4,0	4,1
278	7,0	4,5	8,9	7,4	7,7	7,8	7,3
279	7,2	4,1	7,2	7,0	7,0	7,0	6,7
280	9,6	5,0	6,9	6,5	6,8	7,7	6,5
<b>MW</b>	<b>6,9</b>	<b>4,4</b>	<b>5,9</b>	<b>5,7</b>	<b>5,5</b>	<b>5,4</b>	<b>5,3</b>
<b>STABW</b>	<b>1,1</b>	<b>0,7</b>	<b>1,4</b>	<b>1,2</b>	<b>1,2</b>	<b>1,4</b>	<b>1,2</b>
<b>SEM</b>	<b>0,3</b>	<b>0,2</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>
<b>Median</b>	<b>6,8</b>	<b>4,1</b>	<b>6,2</b>	<b>5,8</b>	<b>5,3</b>	<b>4,9</b>	<b>5</b>

**Tabelle 56:** Kaliumkonzentration Gruppe I (Nieren Nr. 243, 259, 261, 265, 266, 272, 273, 276, 277, 279, 280); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem < 30 %

<b>MW</b>	<b>6,6</b>	<b>4,5</b>	<b>5,3</b>	<b>5,2</b>	<b>5,0</b>	<b>5,0</b>	<b>4,9</b>
<b>SEM</b>	<b>1,99</b>	<b>1,37</b>	<b>1,58</b>	<b>1,57</b>	<b>1,50</b>	<b>1,50</b>	<b>1,48</b>

**Tabelle 57:** Kaliumkonzentration Gruppe II (Nieren Nr. 253, 254, 258, 278, 260, 278); Nierengewichtszunahme prä- zu postperfusionem > 30 %

<b>MW</b>	<b>6,9</b>	<b>4,2</b>	<b>7,0</b>	<b>6,7</b>	<b>6,3</b>	<b>6,2</b>	<b>6,2</b>
<b>SEM</b>	<b>2,83</b>	<b>1,71</b>	<b>2,84</b>	<b>2,74</b>	<b>2,59</b>	<b>2,52</b>	<b>2,51</b>

**Tabelle 58:** Kolloidosmotischer Druck [mmHg] nativ, präperfusionem und zu den Perfusionszeitpunkten t-perf = 20 - 100 min, Niere im „steady-state“

<b>Abnahme: t-perf.: Nieren Nr.:</b>	<b>A0 nativ</b>	<b>A1 präperf.</b>	<b>A2 (20 min)</b>	<b>A3 (40 min)</b>	<b>A4 (60 min)</b>	<b>A5 (80 min)</b>	<b>A6 (100 min)</b>
243	11	10	12	9	8	7	7
253	21	10	6	5	5	4	3
254	20	9	8	8	11	11	11
257	20	8	8	7	9	6	8
258	18	16	9	7	6	5	4
259	19	17	10	10	11	12	11
260	19	13	9	10	9	10	8
261	18	12	12	7	8	8	9
265	18	17	11	6	3	3	2
266	18	17	11	5	3	3	3
272	19	10	6	4	4	4	3
273	20	21	7	4	5	5	4
276	21	17	7	6	8	5	4
277	20	20	7	4	5	5	2
278	21	21	6	5	3	3	2
279	23	20	7	7	6	4	3
280	24	23	5	7	6	6	5
<b>MW</b>	<b>19,5</b>	<b>15,6</b>	<b>8,4</b>	<b>6,7</b>	<b>6,5</b>	<b>6,0</b>	<b>5,3</b>
<b>STABW</b>	<b>2,6</b>	<b>4,8</b>	<b>2,1</b>	<b>1,8</b>	<b>2,6</b>	<b>2,9</b>	<b>3,1</b>
<b>SEM</b>	<b>0,6</b>	<b>1,1</b>	<b>0,5</b>	<b>0,4</b>	<b>0,6</b>	<b>0,7</b>	<b>0,7</b>
<b>Median</b>	<b>20</b>	<b>17</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>

**“ Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht. „**

## **6. Addendum**

Mein Dank gilt Frau Prof. Dr. Gabriele Kaczmarzyk, die mir das Thema für die Arbeit übertrug und mich eigenständig arbeiten ließ.

Mein herzlicher Dank gilt den MTA`s der Abteilung für Experimentelle Anästhesie, Campus Virchow Klinikum, Charité; namentlich Frau Birgit Brandt, Frau Daniela Bayerl sowie Frau Sabine Molling für die Unterstützung und die Einarbeitung in experimentelles Arbeiten. Insbesondere sind für ihr hohes Engagement hervorzuheben die Ärztin Frau Katiá Stahl und Herrn Dipl.-Ing. Olaf Hegemann, die mir durch ihre fachkundige und freundschaftliche Unterstützung bei den Versuchsdurchführungen eine große Hilfe waren.

Mein besonderer Dank geht an Frau Dipl.-Statistikerin Taniá Schink, die mir bei der statistischen Auswertung zur Seite stand, wie ich es mir im Verlauf der Arbeit früher gewünscht hätte.

Vor allem aber möchte ich den Freunden für ihren Beistand danken.

## 7. Literaturverzeichnis

- Abbate M, Remuzzi G.** Proteinuria as a mediator of tubulointerstitial injury. *Kidney Blood Press Res* 22: 37-46, 1999.
- Abouna GM, Delong TG, Pashley DH, Sobel RE, Ginsburg JM, Woodruff M.** Proceedings: Critical evaluation of viability assays in renal preservation. *Br J Surg* 61: 325, 1974.
- Allred AJ, Chapell MC, Ferrario CM, Diz DI.** Differential actions of renal ischemic injury on the intrarenal angiotensin system. *Am J Physiol Renal Physiol* 279: 636-645, 2000.
- Asami T, Soichiro O, Kasahara T, Uchiyama M.** Asymptomatic primary hyper- N-acetyl-beta-D-glucosaminidaseuria. A new clinical entity? *Pediatr Nephrol* 17: 560-565, 2002.
- Belzer FO, Southard JH.** Principles of solid organ preservation by cold storage. *Transpl* 45: 673-676, 1988.
- Belzer FO, Ashby B, Dunphy J.** 24-hour and 72-hour preservation of canine kidneys. *Lancet* 2: 536-538, 1967.
- Berkowitz HD, Miller LD, Itskovitz HD.** Renal function and the renin-angiotensin system in the isolated perfused kidney. *Am J Physiol* 213: 928-934, 1967.
- Berkowitz HD, Miller LD, Itskovitz HD, Bovée KC.** Renal function in the isolated perfused kidney. *Surg Gynecol Obstet* 127: 1257-1266, 1968.
- Besarab A, Silva P, Epstein FH.** Multiple pumps for sodium reabsorption by the perfused kidney. *Kidney Int* 10: 147-153, 1976.
- Bidder E.** Beiträge zur Lehre von der Function der Niere. Inaugural-Dissertation Dorpat, 1862.
- Bird JE, Milhoan K, Wilson CB, Young SG, Mundy CA, Parthasarathy S, Blantz RC.** Ischemic acute renal failure and antioxidant therapy in the rat. The relation between glomerular and tubular dysfunction. *J Clin Invest* 81: 1630-1638, 1988.
- Bland J, Altman D.** Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 8: 307-310, 1986.
- Bonventre JV, Weinberg JM.** Kidney preservation ex vivo for transplantation. *Annu Rev Med* 43: 523-553, 1992.
- Booster MH, Winjen RMH, Yin M, Tiebosch ATM, Heinemann E, Maessen JG, Braam B, Mitchell KD, Koomans HA, Navar LG.** Relevance of the tubuloglomerular feedback mechanism in pathophysiology. *J Am Soc Nephrol* 4: 1257-1274, 1993.
- Brasile L, Stubenitsky BM, Booster MH, Arenada D, Haisch C, Kootstra G.** Hypothermia - a limiting factor using warm ischemically damaged kidneys. *Am J Transplant* 1: 316-320, 2001.

- Brasile L, Stubenitsky BM, Booster MH, Lindell S, Arenada D, Buck C, Bradfield J, Haisch CE, Kootstra G.** Overcoming severe renal ischemia: the role of ex vivo warm perfusion. *Transplantation* 73: 897-901, 2002.
- Bretschneider HJ.** Organübergreifende Prinzipien zur Verlängerung der Ischämietoleranz. In: Jahrbuch 1991 der Deutschen Akademie der Naturforscher. Leopoldina, Halle (Saale), 161-174, 1992.
- Buclin T, Pecheare-Bertschi A, Seachaud R, Deacosterd La, Munafo A, Burnier M.** Sinistrin clearance for determination of glomerular filtration rate: a reappraisal of various approaches using a new analytical method. *J Clin Pharmacol* 37: 679-692, 1997.
- Bullivant M.** Autoregulation of plasma flow in the isolated perfused rat kidney. *Physiol* 280: 141-153, 1978.
- Burke TJ, Cronin RE, Duchin KL, Peterson L, Schrier RW.** Ischemia and tubule obstruction during acute renal failure in dogs: mannitol in protection. *238*: 305-314, 1980.
- Burne-Taney MJ, Kofler J, Yokota N, Weisfeldt M, Traystman RJ, Rabb H.** Acute renal failure after whole body ischemia is characterized by inflammation and T cell-mediated injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 285: 87-94, 2003.
- Busse R, Fleming I.** Pulsatile stretch and shear stress: physical stimuli determining the production of endothelium-derived relaxing factors. *J Vasc Res* 35: 73-84, 1998.
- Buurmann WA, Kurvers HAJM, Stubenitsky BM, Bonke H, Kootstra G.** Enhanced resistance to the effects of normothermic ischemia on kidneys using pulsatile machine perfusion. *Transpl Proc* 25: 3006-3011, 1993.
- Cain H, Fazekas S.** Studien über die Folgen einer vorübergehenden experimentellen Nierenischämie I und II. *Virchows Arch Pathol Anat* I 336: 389-416, II 337: 33-52, 1963.
- Carrel A, Lindbergh CA.** The culture of whole organs. *Science* 81: 621-623, 1935.
- Chan CM, Unwin RJ, Burnsock G.** Potential functional roles of extracellular ATP in kidney and urinary tract. *Exp Nephrol* 6: 200-207, 1998.
- Charreau EH, Kofoed JA, Houssay AB.** Enzymes of glycolytic cycle in periodontal tissues of the guinea pig. *Arch Oral Biol* 11: 709-715, 1966.
- Chatterjee PK, Cuzzocrea S, Brown PA, Zacharowski K, Stewart KN, Mota-Filipe H, Thiemermann C.** A membrane-permeable radical scavenger, reduces oxidant stress-mediated renal dysfunction and injury in the rat. *Kidney Int* 58: 658-673, 2000.
- Chien S, Oeltgen PR, Diana JN, Shi X, Nilekani SP, Salley R.** Two-day preservation of major organs with autoperfusion multiorgan preparation and hibernation induction trigger. A preliminary report. *J Thorac Cardiovasc Surg* 102: 224-234, 1991.

**Clausen P, Feldt-Rasmussen B, Jensen G, Jensen JS.** Endothelial haemostatic factors are associated with progression of urinary albumin excretion in clinically healthy subjects: a 4-year prospective study. *Clin Sci* 97: 37-43, 1999.

**Cole BR, Giangiacomo J, Ingelfinger JR, Robson AM.** Measurement of renal function without urine collection. A critical evaluation of the constant-infusion technic for determination of inulin and para-aminohippurate. *New Engl J Med* 287: 1109-1114, 1972.

**Collins GM.** Forty-eight-hour kidney preservation. A comparison of flushing and ice storage with perfusion. *Arch Surg* 111: 175-177, 1976.

**Colman RW, Scott CF, Schmaier AH, Wachtfogel YT, Pixley RA, Edmunds LH Jr.** Initiation of blood coagulation at artificial surfaces. *Ann N Y Acad Sci* 516: 253-267, 1987.

**Coux G, Trumper L, Elías MM.** Cortical Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPase activity, abundance and distribution after in-vivo renal ischemia without reperfusion in rats. *Nephron* 89: 82-89, 2001.

**Dalton RN, Turner C.** A sensitive method for the measurement of inulin. *Ann Clin Biochem* 24: 231, 1987.

**Day DF, Workmann WE.** A simple inulin assay for renal clearance determination using an immobilised  $\beta$ -fructofuranosidase. *Annals N Y Acad Sci* 424: 504-507, 1984.

**De Haan P, Kalkman CJ, Jacobs MJ.** Pharmacologic neuroprotection in experimental spinal cord ischemia: a systematic review. *J Neurosurg Anesthesiol* 13: 3-12, 2001.

**De Meester J, Persijn GG, Wujciak T, Opelz G, Vanrenterghem Y.** The new eurotransplant kidney allocation system: report one year after implementation. *Transplantation* 66: 1154-1159, 1998.

**Deetjen P, Kramer K.** The relation of O<sub>2</sub> consumption by the kidney to Na re-resorption. *Pflugers Arch Gesamte Physiol Menschen Tiere* 273: 636-650, 1961.

**Delanghe J, Bellon J, De Buyzere M, Van Daele G, Leroux-Roels G.** Elimination of glucose interference in enzymatic determination of inulin. *Clin Chem* 37: 2017-2018, 1991.

**del Canizo JF, Tejedor A, Lledo E, Radvan J, Desco M, Dulin E, Holberndt O, Hernandez C, Garcia-Barreno P.** Isolated kidney controlled perfusion with true physiological pulsatile waveform. *Artif Organs* 22: 279-284, 1998.

**DeRoth L, Vermette L u. Laviere N.** Blood catecholamines in response to handling in normal and stress-susceptible swine. *Appl Anim Behav Sci* 22: 255-260, 1989.

**Donohoe JF, Venkatachalam MA, Bernard DB, Levinsky NG.** Tubular leakage and obstruction after renal ischemia: structural-functional correlations. *Kidney Int* 13: 208-222, 1978.

- Donath A.** The simultaneous determination in children of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow by the single injection clearance technique. *Acta Paediatr Scand* 5: 512-520, 1971.
- Douglas, WR.** Of pigs and men and research: A review of applications and analogies of the pig, *sus scrofa*, in human medical research. *Space Life Sci* 3: 223-34, 1972.
- Downing SW, Edmunds LH Jr.** Release of vasoactive substances during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 54: 1236-1243, 1992.
- Druml W.** Protein metabolism in acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 24: 47-54, 1998.
- Edelstein CL, Ling H, Schrier RW.** The nature of renal cell injury. *Kidney Int* 51: 1341-1351, 1997.
- Edmunds LH Jr.** Why cardiopulmonary bypass makes patients sick: strategies to control the blood-synthetic surface interface. *Adv Card Surg* 6: 131-167, 1995.
- Epstein FH.** Oxygen and renal metabolism. *Kidney Int* 51: 381-385, 1997.
- Estelberger W, Petek W, Zitta S, Mauric A, Horn S, Holzer H, Pogglitsch H.** Determination of the glomerular filtration rate by identification of sinistrin kinetics. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 33: 201-209, 1995.
- Finkel MS, Hoffman RA, Shen L, Oddis CV, Simmons RL, Hattler BG.** Interleukin-6 (IL-6) as a mediator of stunned myocardium. *Am J Cardiol* 71: 1231-1232, 1993.
- Filler G, Priem F, Vollmer I, Gellermann J, Jung K.** Diagnostic sensitivity of serum cystatin for impaired glomerular filtration rate. *Pediatr Nephrol* 6: 501-505, 1999.
- Florijn KW, Barendregt JN, Lentjes EG, van Dam W, Prodjosudjadi W, van Saase JL.** Glomerular filtration rate measurement by single shot injection of inulin. *Kidney Int* 46: 252-259, 1994.
- Forbes JM, Jandeleit-Dahm K, Allen TJ, Hewitson TD, Becker GJ, Jones CL.** Endothelin and endothelin A/B receptors are increased after ischaemic acute renal failure. *Exp Nephrol* 9: 309-316, 2001.
- Franssen C, Defraigne JO, Detry O, Pincemail J, Deby C, Lamy M.** Antioxidant defense and free radical production in a rabbit model of kidney ischemia-reperfusion. *Transplant Proc* 27: 2880-2883, 1995.
- Giovannetti S, Barsotti G.** In defense of creatinine clearance. *Nephron* 59: 11-14, 1991.
- Gok MA, Shenton BK, Peaston R, Cornell C, Robertson H, Mathers M, Aitchison JD, Dark JH, Talbot D.** Improving the quality of kidneys from non-heart-beating donors, using streptokinase: an animal model. *Transplantation* 73: 1869-1874, 2002.

**Gormley SM, McBride WT, Armstrong MA, McClean E, MacGowan SW, Campalani G, McMurray TJ.** Plasma and urinary cytokine homeostasis and renal function during cardiac surgery without cardiopulmonary bypass. *Cytokine* 17: 61-65, 2002.

**Guidollet J, Devic J, Ripoll JP.** Value of phosphohexose isomerase (PHI) determination in myocardial infarct. *Arch Mal Coeur Vaiss* 10: 1103-1108, 1975.

**Goujon JM, Vandewalle A, Baumert H, Carretier M, Hauet T.** Influence of cold-storage conditions on renal function of autotransplanted large pig kidneys. *Kidney Int* 58: 838-850, 2000.

**Gretz N, Ecker-Tschirner KH, Kuehnle HF, von Dahl K, Kirschnk M, Drescher P, Lasserre JJ, Strauch M.** Practicability of the inulin plasma single-shot clearance. *Contrib Nephrol* 81: 220-228, 1990.

**Gridelli B, Remuzzi G.** Strategies for making more organs available for transplantation. *N Engl J Med* 343: 404-410, 2000.

**Gyrd-Hansen N.** Renal clearances in pigs: inulin, endogenous creatinine, urea, para-aminohippuric acid, sodium, potassium and chloride. *Acta Vet Scand* 9: 183-198, 1968.

**Hammad FT, Davis G, Zhang X, Wheatley AM.** The role of endothelin in early renal cortical reperfusion in renal transplantation. *Eur Surg Res* 32: 380-388, 2000.

**Hannon JP, Bossone CA, Wade CE.** Normal physiological values for conscious pigs used in biomedical research. *Lab Anim Sci* 40: 293-298, 1990.

**Hansen TN, D'Alessandro A, Southard JH.** Reduced renal vascular injury following warm ischemia and preservation by hypothermic machine perfusion. *Transplant Proc* 29: 3577-3579, 1997.

**Hattler BG, Zeevi A, Oddis C, Finkel M.** Cytokine induction during cardiac surgery: analysis of TNF-alpha expression pre- and postcardiopulmonary bypass. *J Card Surg* 10 : 418-422, 1995.

**Hauet T, Gibelin H, Richer JP, Godart C, Eugene M, Carretier M.** Influence of retrieval conditions on renal medulla injury: evaluation by proton NMR spectroscopy in an isolated perfused pig kidney model. *J Surg Res* 93: 1-8, 2000.

**Hauet T, Goujon JM, Tallineau C, Carretier M, Eugene M.** Early evaluation of renal reperfusion injury after prolonged cold storage using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Br J Surg* 86:1401-1409, 1999.

**Hauet T, Mothes D, Goujon JM, Caritez JC, Carretier M, le Moyec L, Eugene M, Tillement JP.** Trimetazidine prevents renal injury in the isolated perfused pig kidney exposed to prolonged cold ischemia. *Transplantation* 64: 1082-1086, 1997.

- Hauet T, Mothes D, Goujon JM, Caritez JC, Le Moyec L, Carretier M, Eugene M.** Evaluation of normothermic ischemia and simple cold preservation injury in pig kidney by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Surg Res* 68: 116-125, 1997.
- Hauet T, Mothes D, Goujon JM, Carretier M, Eugene M.** Protective effect of polyethylene glycol against prolonged cold ischemia and reperfusion injury: study in the isolated perfused rat kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 297: 946-952, 2001.
- Hauet T, Goujon JM, Baumert H, Petit I, Carretier M, Eugene M, Vandewalle A.** Polyethylene glycol reduces the inflammatory injury due to cold ischemia/reperfusion in autotransplanted pig kidneys. *Kidney Int* 62: 654-667, 2002.
- Heiene R, Moe L.** Pharmacokinetic aspects of measurement of glomerular filtration rate in the dog: A Review. *J. Vet. Intern. Med* 12: 401-414, 1998.
- Hellerstein S, Berenbom M, Alon U, Warady BA.** The renal clearance and infusion clearance of inulin are similar, but not identical. *Kidney Int* 44: 1058-1061, 1993.
- Hellerstein S, Simon SD, Berenbom M, Erwin P, Nickell E.** Creatinine excretion rates for renal clearance studies. *Pediatr Nephrol* 16: 637-43, 2001.
- Helin I, Axenram M, Grubb A,** Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol* 4: 221-225, 1998.
- Herrera B, Eisenberg G, Desco MM, Holberndt O, Rábano A, Castilla M, Barreno-Garcia P, Canino del JF.** Perfusate lactate dehydrogenase level and intrarenal resistance could not be adequate markers of perfusion quality during isolated kidney perfusion. *Artif Organs* 24: 899-918, 2000.
- Hierholzer K, Schmidt RF. (Hrsg.).** Pathophysiologie des Menschen. *Edition medizin, VHC Verlagsgesellschaft Weinheim* 1991.
- Holzer A, Matzke P, Littmann E.** Schweine wollen schonend behandelt werden- Ergebnisse einer Untersuchung über den Einfluß von Bedingungen beim Transport und vor der Schlachtung auf die Fleischbeschaffenheit beim Schwein an sechs Schlachthöfen Bayerns. *Akt. Inf. u. Hinw. der BLT* 4: 1-15, 1992.
- Johansson G, Olsson K, Häggendal J, Jönsson L, Thoren-Tolling K.** Effects of stress on myocardial cells and blood levels of catecholamines in normal and amygdallectomized pigs. *Can J Comp Med* 46: 176-182, 1982.
- Ito Y, Sisido M, Imanishi Y.** Adsorption of plasma proteins and adhesion of platelets onto novel polyetherurethaneureas--relationship between denaturation of adsorbed proteins and platelet adhesion. *J Biomed Mater Res* 24: 227-242, 1990.

- Jacobj C.** Ein Beitrag zur Technik der künstlichen Durchblutung überlebender Organe. Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie. *Arch Exp Pathol Pharm* 31: 330-348, 1895.
- Jung K, Henke W, Schulze BD, Sydow K, Precht K, Klotzek S.** Single-injection inulin clearance using only one blood sample as a suitable procedure to measure glomerular filtration rate. *Nephron* 59: 694-695, 1991.
- Jung F, Waldhausen P, Spitzer S, Mrowietz C, Häuser B, Wenzel E.** Hämorrhheologische, mikro- und makrozirkulatorische Effekte einer hypervolämischen Hämodilution mit mittelmolekularer Hydroxyäthylstärke (Haes 200/0,62; 6 percent). *Infusionstherapie* 15: 265-271, 1988.
- Keil J, Lehnfeld R, Reinhardt HW, Mohnhaupt R, Kaczmarczyk G.** Acute effects of angiotensin II on renal haemodynamics and excretion in conscious dogs. *Renal Physiol Biochem* 12: 238-249, 1989.
- Knickel UR, Wilczek C, Jöst K.** MemoVet-Praxisleitfaden, Tiermedizin. Schattauer Verlag, Stuttgart; New York, 1996.
- Kolenda KD, Jost S, Kokenge F.** In: Digitalistherapie bei Herzinsuffizienz: Kocjsiek K/Rietbrock N [Hrsg.], München, 47-53, 1981.
- Kolb E.** Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Gustav Fischer Verlag, Jena, 726-729, 1989.
- Krutzen E, Back SE, Nilsson-Ehle I, Nilsson-Ehle P.** Plasma clearance of a new contrast agent, iohexol: a method for the assessment of glomerular filtration rate. *J Lab Clin Med* 6: 955-961, 1984.
- Kuehnle H, Dahl K, Schmidt FH.** Fully enzymatic inulin determination in small volume samples without deproteinization. *Nephron* 62: 104-107, 1992.
- Kwon O, Corrigan G, Myers BD, Sibley R, Scandling JD, Dafoe D, Alfrey E, Nelson WJ.** Sodium reabsorption and distribution of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase during postischemic injury to the renal allograft. *Kidney Int* 55: 963-975, 1999.
- Ladagaard-Pedersen HJ.** Measurement of extracellular volume and renal clearance by a single injection of inulin. *Scand J Clin Lab Invest* 29: 145-153, 1972.
- Lameire N.** The pathophysiology of acute renal failure. *Crit Care Clin* 21: 197-210, 2005.
- Lázár N, Dallos G, Nemes B, Németh T, Sótoni P, Kóbori L.** Experimental investigation of preservation injury in animal kidneys after reperfusion with Euro-Collins. *Acta Chirurgica Hungarica* 36: 192-194, 1997.
- Levey A.** Use of measurements of GFR to assess the progression of renal disease. *Semin Nephrol* 9: 370-378, 1989.

- Lindell SL, Compagnon P, Mangino MJ, Southard JH.** UW solution for hypothermic machine perfusion of warm ischemic kidneys. *Transplantation* 79: 1358-1361, 2005.
- Lindena J, Sommerfeld U, Hopfel C, Trautschold I.** Catalytic enzyme activity concentration in tissues of man, dog, rabbit, guinea pig, rat and mouse. Approach to a quantitative diagnostic enzymology. *J Clin Chem Clin Biochem* 24: 35-47, 1986.
- Lindström KE, Rönnstedt L, Jaremko G, Haraldson B.** Physiological and morphological effects of perfusing isolated rat kidneys. *Acta Physiol Scand* 166: 231-238, 1999.
- Loebell CE.** De conditionibus quibus secretiones in glandulis perficiuntur. Dissertatio Inauguralis Marburg, 1849.
- Loon G.R. van, R. Kvetnansky u. J. Axelrod.** Stress: Neurochemical and Humoral Mechanisms. Verlag Gordon & Breach, New York, USA, 1988.
- Maack T.** Renal clearance and isolated kidney perfusion techniques. *Kidney Int* 30: 142-151, 1986.
- Malis CD, Cheung JY, Leaf A, Bonventre JV.** Effects of verapamil in models of ischemic acute renal failure in the rat. *Am J Physiol* 245: 735-742, 1983.
- Marahrens M, Nowak B, Feldhusen F, Hartung J.** Belastungen von Schweinen im Wartestall sowie beim Zutrieb zur Elektrobetäubung und ihre Auswirkungen auf die Fleischbeschaffenheit. *Fleischwirtschaft* 77: 717-720, 1997.
- Mashiach E, Sela S, Winaver J, Shasha SM, Kristal B.** Renal ischemia-reperfusion injury: contribution of nitric oxide and renal blood flow. *Nephron* 80: 458-467, 1998.
- Mason J, Torhorst J, Welsch J.** Role of the medullary perfusion defect in the pathogenesis of ischemic renal failure. *Kidney Int* 26: 283-293, 1984.
- Mayer BA.** An extracorporeal warm perfusion device for basic research: possibility of avoiding some animal experiments. *Artif Organs* 23: 1126-1128, 1999.
- Mertz DP, Sarre H.** Polyfructosan S: a new inulin-like substance for the determination of the glomerulus filtrate and of physiologically active intracellular fluid in humans. *Klin Wochenschr* 41: 868-872, 1963.
- Mertz DP\*.** Observations on the renal clearance and the volume of distribution of polyfructosan-S, a new inulin like substance. *Experimentia*: 248-249, 1963.
- Molitoris BA, Marrs J.** The role of cell adhesion molecules in ischemic acute renal failure. *Am J Med* 106: 583-592, 1999.
- Mueller-Suur R, GoÈransson M, Olsen L, BaÈcklund G, BaÈcklund L.** Inulin single injection clearance. Microsample technique useful in children for determination of glomerular filtration rate. *Clin Physiol* 3: 19-27, 1983.

**Nakamura K, Harasaki H, Fukumura F, Fukamachi K, Whalen R.** Comparison of pulsatile and non-pulsatile cardiopulmonary bypass on regional renal blood flow in sheep. *Scand Cardiovasc J* 38: 59-63, 2004.

**Noiri E, Nakao A, Uchida K, Tsukahara H, Ohno M, Fujita T, Brodsky S, Goligorsky MS.** Oxidative and nitrosative stress in acute renal ischemia. *Am J Physiol Renal Physiol* 281: 948-957, 2001.

**Obialo CI, Okonofua EC, Nzerue MC, Tayade AS, Riley LJ.** Role of hypoalbuminemia and hypocholesterolemia as copredictors of mortality in acute renal failure. *Kidney Int* 56: 1058-1063, 1999.

**Ochwadt B.** Relation of renal blood supply to diuresis. *Prog Cardiovasc Dis* 3: 501-510, 1961.

**Oeltgen PR, Horton DH, Bolling SF, Su TP.** Extended lung preservation with the use of hibernation trigger factors. *Ann Thoracic Surg* 61: 1488-1493, 1996.

**Olsen DB.** The history of continuous-flow blood pumps. *Artificial Organs* 24: 401-404, 2000.

**Osswald H, Vallon V, Muhlbauer B.** Role of adenosine in tubuloglomerular feedback and acute renal failure. *J Auton Pharmacol* 16: 377-380, 1996.

**Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF.** Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 74: 1156-1164, 1984.

**Park P, Haas M, Cunningham PN, Bao L, Alexander JJ, Quigg RJ.** Injury in renal ischemia-reperfusion is independent from immunoglobulins and T lymphocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 282: 352-357, 2002.

**Persson, PB.** Physiological regulation of renal blood flow and glomerular filtration rate by the endothelium and smooth muscle. *Blood Purif* 15: 219-227, 1997.

**Phaneuf MD, Berceci SA, Bide MJ, Quist WC, LoGerfo FW.** Covalent linkage of recombinant hirudin to poly(ethylene terephthalate) (Dacron): creation of a novel antithrombin surface. *Biomaterials* 18: 755-765, 1997.

**Plestina S, Gamulin S.** Kidney ischaemia-reperfusion injury and polyribosome structure. *Nephron* 89: 201-207, 2001.

**Prescott LF, Freestone S, McAuslane JA.** Reassessment of the single intravenous injection method with inulin for measurement of the glomerular filtration rate in man. *Clin Sci* 80: 167-176, 1991.

**Price PM, Megyesi J, Saf Irstein RL.** Cell cycle regulation: repair and regeneration in acute renal failure. *Kidney Int* 66: 509-514, 2004.

**Ren Y, Garvin JL, Carretero OA.** Efferent arteriole tubuloglomerular feedback in the renalnephron. *Kidney Int* 59: 222-229, 2001.

- Rick W.** Nephrologische Daten von Mensch und Schwein: Klinische Chemie und Mikroskopie. Eine Einführung, Springer Verlag Berlin, 1977.
- Rosen S, Heymann SN.** Difficulties in understanding human “acute tubula necrosis” limited data and flawed animal models. *Kidney Int* 60: 1220-1224, 2001.
- Russell CD.** Optimum sample times for single-injection, multisample renal clearance methods. *J Nuc Med* 34: 1761-1765, 1993.
- Rustom R, Costigan M, Shenkin A, Bone JM.** Proteinuria and renal tubular damage: urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase and isoenzymes in dissimilar renal disease. *Am J Nephrol* 18: 179-185, 1998.
- Sato R, Soeta S, Syuto B, Yamagishi N, Sato J, Naito Y.** Urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and its isoenzymes in cats with urinary disease. *J Vet Med Sci* 64: 367-371, 2002.
- Shannon JA, Smith HW.** The excretion of inulin, xylose und urea by normal and phlorizinized man. *J Clin Invest* 12 : 393-410, 1935.
- Schäfer D, von Borell E, Laube RB.** Handling von Schlachtschweinen in der Vorwarenbucht. Eine geeignete Methode zum belastungsreduzierten Austrieb. *Fleischwirtschaft* 77: 608-610, 1997.
- Schetz M.** Vasopressors and the kidney. *Blood Purif* 20: 243-251, 2002.
- Schmidt RF, Thews G.** Physiologie des Menschen. *Springer Verlag*, 1997.
- Schnurr E, Lahme W, Kuppers H.** Measurement of renal clearance of inulin and PAH in the steady state without urine collection. *Clin Nephrol* 13: 26-29, 1980.
- Schramm L, La M, Heidbreder E, Hecker M, Beckmann JS, Lopau K, Zimmermann J, Rendl J, Reiners C, Winderl S, Wanner C, Schmidt HW.** L-arginine deficiency and supplemetation in experimetal cute renal failure and in human kidney transplantation. *Kidney Int* 61: 1423-1432, 2002.
- Schurek HJ, Alt JM.** Effect of albumin on the function of perfused rat kidney. *Am J Physiol* 240: 569-576, 1981.
- Sondeen JL, Hong SK, Claybaugh JR, Krasney JA.** Effect of hydration state on renal responses to head-out water immersion in conscious dogs. *Undersea Biomed Res* 17: 395-411, 1990.
- Song Z, Wang C, Stammers AH.** Clinical comparison of pulsatile and nonpulsatile perfusion during cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Techno* 29: 170-175, 1997.
- Soper CPR, Bending MR, Barron JL.** An automated enzymatic inulin assay, capable of full sinistrin hydrolysis. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 33: 497-501, 1995.
- Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, Chertow GM, Mehta RL, Paganini EP, Soroko S, Freedman S, Becker K, Spratt D, Shyr Y, Ikizler TA, PICARD Study Group.** Plasma

cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Kidney Int* 65: 1357-1365, 2004.

**Spies T, Praznik W, Hofinger A, Altmann F, Nitsch E, Wutka R.** The structure of the fructan sinistrin from *Urginea maritima*. *Carbohydr Res* 235: 221-230, 1992.

**Stahl K, Fehrenberg C, Neew-Galuschka E, Krössin T, Kaczmarczyk G.** Losartan decreases glomerular filtration rate in isolated perfused porcine slaughterhouse kidneys. *Altern Lab Anim* 30: 199-208, 2002.

**Stehouwer CDA, Fischer HRA, Vankuijk AWR, Polak BCP, Donker AJM.** Endothelial dysfunction precedes development of microalbuminuria in IDDM. *Diabetes* 44: 561-564, 1995.

**Stickle D, Cole B, Hock K, Hruska KA, Scott MG,** Correlation of plasma concentrations of cystatin C and creatinine to inulin clearance in a pediatric population. *Clin Chem*; 6: 1334-1338, 1998.

**Stubenitsky BM, Ametani M, Danielewicz R, Southard JH, Belzer FO.** Regeneration of ATP in kidney slices after warm ischemia and hypothermic preservation. *Transpl Int* 8: 293-297, 1995.

**Sugita O, Tomiyama T, Okada M, Gejyo F, Arakwa M, Takahashi S.** A new Enzymatic method for the determination of inulin. *Ann Clin Biochem* 32: 561-565, 1995.

**Summerfield AL, Hortin GL, Smith CH, Wilhite TR, Landt M.** Automated enzymatic analysis of inulin. *Clin Chem* 39: 2333-2337, 1993.

**Sutton T, Fisher CJ, Molitoris BA.** Microvascular endothelial injury and dysfunction during ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 62: 1539-1549, 2002.

**Tahara M, Nakayama M, Jin MB, Fujita M, Suzuki T, Taniguchi M, Shimamura T, Furukawa H, Todo S.** A radical scavenger, edaravone, protects canine kidneys from ischemia-reperfusion injury after 72 hours of cold preservation and autotransplantation. *Transplantation* 80: 213-221, 2005.

**Takada M, Chandraker A, Nadeau KC, Sayegh MH, Tilney NL.** The role of B7 costimulatory pathway in experimental cold ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest* 100: 1199-1203, 1997.

**Takada M, Nadeau KC, Shaw GD, Marquette KA, Tilney NL.** The cytokine adhesion molecule cascade in ischemia/reperfusion injury in the rat kidney inhibition by a soluble P-selectin ligand. *J Clin Invest* 99: 2682 -2690, 1997.

**Undar A, Masai T, Yang SQ, Goddard-Finegold J, Frazier OH, Fraser CD Jr.** Effects of perfusion mode on regional and global organ blood flow in a neonatal piglet model. *Ann Thorac Surg* 68: 1336-1342, 1999.

- Usdin E, Kventnansky R u. Kopin IJ.** Catecholamines and Stress. *Verlag Pergamon Press*, Oxford, UK, 1976.
- Van Acker BA, Koomen GC, Arisz L.** Drawbacks of the constant-infusion technique for measurement of renal function. *Am J Physiol* 268: 543-552, 1995.
- Vanholder R, Vriese de A, Lameire N.** The role of dialyzer Biocompatibility in acute renal failure. *Blood Purif* 18: 1-12, 2000.
- Veelken R.** Neural control of kidney function. *Kidney Blood Press Res* 21: 249-252, 1998.
- Versteilen AM, Di Maggio F, Leemreis JR, Groeneveld AB, Musters RJ, Sipkema P.** Molecular mechanisms of acute renal failure following ischemia/reperfusion. *Int J Artif Organs* 27: 1019-1029, 2004.
- von Baeyer H, Stahl K, Häusler M, Meissler M, Unger V, Frank J, Grosse-Siestrup Ch, Kaczmarczyk G, Affeld K, Flaig HJ, Steinbach B.** Eine neue Methode zur Ex-vivo-Vollblut-Perfusion isolierter Warmblüterorgane, dargestellt an der Niere von Schweinen. *Biomedizinische Technik* 42: 61-70, 1997.
- Wagner MC, Molitoris BA.** Renal epithelial polarity in health and disease. *Pediatr Nephrol* 13: 163-170, 1999.
- Waldmann KH, Wendt M, Bickhardt K.** Kreatinin-Clearance als Grundlage klinischer Nierenfunktionsbestimmung beim Schwein. *Tierärztl Prax* 19: 373-380, 1991.
- Wendt M, Waldmann KH, Bickhardt K.** Vergleichende Untersuchung der Inulin- und Kreatinin-Clearance beim Schwein. *J Vet Med* 37: 752-759, 1990.
- Wenzlawowicz von M, Schütte A, Holleben von K, Altrock von A, Bostelmann N, Rüb S.** Felduntersuchung der MIDAS-Schweinebetäubungsanlage mit Inarco-System hinsichtlich Tierschutz und Schlachtkörperqualität. *Fleischwirtschaft* 78: 1096-1099, 1998.
- Wilhelm SM, Simonson MS, Robinson AV, Stowe NT, Schulak JA.** Endothelin up-regulation and localization following renal ischemia and reperfusion. *Kidney Int* 55: 1011-1018, 1999.
- Witteveen SA, Hemker HC, Hollaar L, Hermens WT.** Quantitation of infarct size in man by means of plasma enzyme levels. *Br Heart J* 8: 795-803, 1975.
- Woltersdorf, W, Troeger K.** Schlachttechnik zur Verminderung des PSE – Anteiles beim Schwein. *Fleischwirtschaft* 67: 724-730, 1987.
- Ylinen EA, Ala-Houhala M, Harmoinen AP, Knip M,** Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in pediatric patients. *Pediatr Nephrol* 6: 506-509, 1999.
- Ysebaert DK, De Greef KE, De Beuf A, Van Rompay AR, Vercauteren S, Persy VP, De Broe ME.** T cells as mediators in renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 66: 491-496, 2004.

**Zitta S, Stoschitzky K, Zweiker R, Oetl K, Reibnegger G, Holzer H, Estelberger W.** Dynamic renal function testing by compartmental analysis: assessment of renal functional reserve in essential hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 15: 1162-1169, 2000.

**Zoja C, Benigni A, Remuzzi G.** Protein overload activates proximal tubular cells to release vasoactive and inflammatory mediators. *Exp Nephrol* 7: 420-428, 1999.