

1. Literaturübersicht

1.1. Physiologie der Niere

Morphologie

Das *Nephron*, die anatomisch-funktionelle Einheit der Niere, besteht aus dem *Corpusculum renale* (dem Nierenkörperchen), das wiederum aus dem *Glomerulus* und der umgebenden Bowman'schen Kapsel besteht, dem proximalen *Tubulus* (Hauptstück), bestehend aus *Tubulus contortus proximalis* und *Tubulus rectus proximalis*, dem Überleitungsstück (*Tubulus attenuatus*), dem Hauptstück mit *Tubulus rectus distalis* und *Tubulus contortus distalis* und dem Sammelrohrsystem. Die Henle-Schleife wird gebildet aus dem *Tubulus rectus proximalis* (absteigender Teil), dem *Tubulus attenuatus* und dem *Tubulus rectus distalis* (dicker aufsteigender Teil).

Es ist von Bedeutung, dass kortikale und juxtamedulläre Nephrone existieren, wobei letztere der tiefen Rindenschicht entspringen und z. T. bis in die Papillenspitze hinein reichen (Daugharty *et al.* 1974). Kortikale Nephrone entspringen der äußeren Rindenschicht und reichen bis in die äußeren Bereiche des Nierenmarks (Mason *et al.* 1983). In die *Glomerula* treten afferenten Arteriolen ein. Das die *Glomerula* verlassende Blut wird ebenfalls durch kontraktionsfähige Arteriolen, die *Vasa efferentia*, abgeführt. Im Bereich zwischen diesen Gefäße und dem *Glomerulus* liegt der juxtaglomeruläre Apparat, zu dem auch die *Macula densa* des *distalen Tubulus* gehört. In jedem Nephron gewinnt der *distale Tubulus* damit einen erneuten Kontakt zum ursprünglichen *Glomerulus*; eine Tatsache, die die funktionelle Theorie des tubuloglomerulären „feed back“ von Thureau und Schnermann morphologisch begründet hat (Thureau *et al.* 1998).

Die Filtrationsbarriere in den *Glomerula* besteht aus den Endothelzellen der Kapillaren, einer negativ geladenen (bedingt durch sialinsäurehaltige Proteoglykane und Glykoproteine) dreischichtigen Basalmembran und den epithelialen Podozyten der Bowman'schen Kapsel (Adal *et al.* 1995). Technisch gesehen stellt die glomeruläre Filtrationsbarriere in Bezug auf Makromoleküle eine semipermeable Membran dar. Zwischen den Kapillarschlingen, besonders in der Nähe des Gefäßpols, liegen die Mesangiumzellen. Sie besitzen die Fähigkeit zur Phagozytose und unterstützen die glomeruläre Basalmembran in ihrer Funktion. Der filtrierte Primärharn ähnelt in seiner Zusammensetzung dem Blutplasma, mit Ausnahme der fehlenden Proteine. Mit Hilfe der *Tubuli* wird durch Reabsorption wichtiger Stoffe und Wasser der Endharn produziert.

Funktion

Für praktische Zwecke kann die Nierenfunktion in die Bereiche „glomeruläre Filtration“, „tubulärer Transport“, „renale Osmoregulation“ und „endokrine Funktion“ unterteilt werden.

Glomeruläre Filtration

Die glomeruläre Filtrationsbarriere stellt dem hydrostatischen Filtrationsdruck, der treibenden Kraft der „Primärharnbildung“, sowohl eine Ladungs- als auch eine Größenbarriere entgegen. Der gebildete Primärharn enthält dieselben kleinmolekularen Solute wie das Plasma mit einem Teilchenradius $>1,8$ nm (>15 kDa). Bei einem Radius von $1,8 - 4,4$ nm (~ 80 kDa) gelangen Moleküle nur noch teilweise in den Primärharn, wobei negativ geladene Teilchen schlechter filtrierte werden. Da Proteine bei physiologischem pH-Wert meist als Anionen vorliegen, werden sie entsprechend ihrer Größe zusätzlich auch wegen ihrer Ladung am Durchtritt behindert.

Für das Thema der vorliegenden Arbeit ist es besonders wichtig, die physiologische Bedeutung der Erhöhung des onkotischen Drucks im efferenten Plasma durch die glomeruläre Filtration zu verstehen (Deen *et al.* 1977). Durch die Filtration, die gewöhnlich mit einer Filtrationsfraktion von 20 % des efferenten Plasmawassers erfolgt, werden wegen der Rückhaltung der Plasmaproteine automatisch die Konzentration dieser Proteine und damit der onkotische Druck im efferenten Plasma erhöht. Die onkotische Druckdifferenz zum peritubulären Extravasalraum stellt die treibende Kraft für die Wiederaufnahme des Resorbatvolumens in das efferente Blut aus dem peritubulären *Interstitium* der proximalen *Tubuli* dar. Das tubuläre Resorbat befindet sich zunächst im peritubulären *Interstitium*, nachdem durch die tubulären Ionenpumpen in Anwesenheit einer osmotischen Leitfähigkeit der Tubuli ca. 1/3 des Primärharns rückabsorbiert wurde. Durch die filtrationsbedingte Vergrößerung des onkotischen Drucks in den peritubulären Kapillaren wird das tubuläre Resorbat wieder in den Blutkreislauf zurückgenommen. Jede Veränderung des peritubulären onkotischen Drucks verändert auch die effektive Tubulusfunktion.

Da eine so genannte „glomerulo-tubuläre Balance“ besteht, zieht eine Steigerung der proximalen Volumenabsorption automatisch eine Steigerung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) nach sich (Baeyer *et al.* 1980). Eine unbegrenzte Steigerung der GFR ist wegen der „Konzentrationspolarisierung“ der Proteine nicht möglich. Die GFR ist maximal begrenzt (Henderson *et al.* 1978).

Literaturübersicht

Tubulärer Transport

Der *proximalen Tubulus* ist mit Porenendothel ausgekleidet. Die Absorption größerer Mengen von Na^+ -Ionen im *proximalen Tubulus* gegen einen kleinen Konzentrationsgradienten lässt Wasser passiv nachfolgen. In den distalen Bereichen liegt die umgekehrte Situation vor. Man unterscheidet aktive und passive Transportmechanismen. Die transtubuläre Solutenabsorption erfolgt durch ein System von aktiven, d.h. Stoffwechselenergie direkt verbrauchende Ionenpumpen, in Verbindung mit passiven Ionenkanälen, die unterschiedlich (*apikaler* und *basolateraler* Zellpol) lokalisiert sind.

Tubulus-Segment	apikal	basolateral
Proximaler Tubulus	Na^+ / D-Glucose - Cotransporter PO_4 - Cotransporter Aminosäuren - Cotransporter H^+ / Na^+ - Antiporter	3Na^+ / 2K^+ - ATPase Ca^{++} - ATPase
Henle'sche Schleife	Na^+ - K^+ - 2Cl^- -Kanal Furosemid sensitiv ROMK- K^+ -Kanal K^+ - Kanal	3Na^+ / 2K^+ - ATPase Cl^- - Kanal cAMP abhängig Indomethazin sensitiv K^+ / Cl^- - Cotransporter
Distaler Tubulus	Na^+ / Cl^- - Cotransporter Thiazid sensitiv Ca^{++} - Kanal	3Na^+ / 2K^+ - ATPase Cl^- - Kanal Ca^{++} - ATPase
Sammelrohre	Na^+ / Cl^- - Cotransporter Aquaporine-2	3Na^+ / 2K^+ - ATPase Aldosteron sensitiv Vasopressin-Rezeptor ADH sensitiv

Literaturübersicht

Wasser wird ausschließlich passiv absorbiert (transzellulär durch Aquaporine 1 und 2 oder parazellulär).

Absorbiert werden weiterhin Calcium, Magnesium, Phosphat, Sulfat, Monosaccharide, Aminosäuren, Oligopeptide, Harnstoff, Ammoniak, Harnsäure. Der Mechanismus dafür ist entweder die „non ionic diffusion“ (z.B. für Ammoniak) oder der sekundär-aktive Cotransport (z.B. bei D-Glucose und Aminosäuren). Außerdem können körperfremde Stoffe oder körpereigene Abbauprodukte sezerniert werden (Fromm *et al.* 2000).

Filtriertes Bicarbonat wird durch Wasserstoffionensekretion im proximalen Tubulus in H_2O und CO_2 verwandelt und als solches osmotisch und diffusiv absorbiert.

Die passive Wasserabsorption in den Nierentubuli beruht auf einem osmotischen Druckgefälle zwischen *Tubuluslumen* und Tubuluszelle. Erzeugt wird das osmotische Druckgefälle in den meisten Tubulusabschnitten durch aktiven Na^+ -Transport. Na^+ -Ionen sind die am häufigsten anzutreffenden osmotisch wirksamen Teilchen im Primärharn (Berliner *et al.* 1958).

Der physikalische pH-Wert des Blutes liegt zwischen 7,36 - 7,44. Bei Vorliegen einer azidotischen Stoffwechsellage wird der Urin angesäuert, indem vermehrt Säuren ausgeschieden werden, während das filtrierte Bicarbonat fast vollständig absorbiert wird. Bei einer Alkalose wird der Urin durch umgekehrte Mechanismen alkalisiert.

Die Niere kontrolliert die extrazelluläre Bikarbonatkonzentration und den pH-Wert über die Netto-Säurenexkretion (Fromm *et al.* 2000). Der Protonen-, Bicarbonat- und Phosphattransport, ebenso wie die Ammoniumsynthese im proximalen Tubulus, passt sich den homöostatischen Gegebenheiten an. Ebenso haben die protonen- und bicarbonatsezernierenden Zellen der distalen Tubuli ein hohes Adaptationsvermögen. Protonen werden im proximalen Tubulus über einen Na^+/H^+ -Cotransporter sezerniert.

HPO_4^{2-} kann in einer azidotischen Stoffwechsellage aus den Knochen freigesetzt werden und sich mit den Protonen zu H_2PO_4^- verbinden, das unabsorbiert als Säure ausgeschieden wird. Zusätzlich werden vermehrt Ammonium-Ionen ausgeschieden, diese und NH_3 entstehen v. a. aus Diamino-Aminosäuren. NH_3 ist in der Lage, die Lipiddoppelschicht der Membranen zu überwinden und verbindet sich in der Tubulusflüssigkeit mit zirkulierenden Protonen zu Ammonium-Ionen, die als saure Valenz ausgeschieden werden.

Liegt die HCO_3^- -Plasmakonzentration im physiologischen Bereich, wird nahezu alles an Bicarbonat absorbiert. Steigen die HCO_3^- -Konzentrationen (wie bei einer Alkalose), so wird vermehrt Bicarbonat über den Urin ausgeschieden (Fromm *et al.* 2000). Absorbiert wird nicht das Bicarbonat sondern CO_2 , das in die Zelle diffundiert, dort zu H_2CO_3 umgewandelt wird und ein Proton abgibt. HCO_3^- wird über verschiedene Transportmechanismen in das Blut aufgenommen.

Literaturübersicht

Zusätzlich gibt es eine K^+/H^+ -ATPase, die je nach Stoffwechsellage in die basolaterale (bei einer Alkalose werden so Protonen absorbiert) oder in die apikale Membran (bei einer Azidose werden Protonen sezerniert) eingebaut wird (Deetjen *et al.* 1976)

Renale Osmoregulation

Die endokrine Regulation des Wasserhaushalts erfolgt über die Ausschüttung des hypophysären antidiuretischen Hormons (ADH) (Berliner *et al.* 1958).

Das Primärfiltrat weist mit 290 mosmol/kg die gleiche Osmolalität wie das Blutplasma auf. Der Urin kann abhängig von der Flüssigkeitsaufnahme, stoffwechselbedingten Störungen oder Veränderungen im Endokriniem hypo-, iso- oder hyperten sein (Ullrich *et al.* 1956).

Eine Feinsteuerung der H_2O -Abgabe in den Primärharn, bzw. die Reabsorption aus demselben, erfolgt in den distalen Tubuli und Sammelrohren. Dort können bei erhöhter NaCl-Konzentration Aquaporine in die Sammelrohrepithelien eingebaut werden, so dass der Urin durch Wasserentzug hypertener wird und somit dem Körper mehr Wasser zur Verfügung steht (Cowley 1997).

Endokrine Funktion

Die Nieren sind sowohl Zielorgan von Hormonen als auch Produktionsort einiger Hormone.

Renin (ein proteolytisches Enzym) wird in den juxtaglomerulären Zellen gebildet und gelangt direkt in die Blutbahn. Auch Erythropoetin, Thrombopoetin und Megakaryopoetin werden hauptsächlich in der Niere gebildet (Fromm *et al.* 2000).

Renin wird durch unterschiedliche Stimuli ausgeschüttet, nämlich bei Blutdruckabfall, verminderter NaCl-Konzentration im *Macula densa*-Bereich, durch Medikamente (Diuretika, Ca^{2+} -Antagonisten) und renale sympathische Innervation über α_1 -Adrenozeptoren. Durch Renin wird das in der Leber synthetisierte Angiotensinogen zum inaktiven Dekapeptid Angiotensin I abgebaut, das durch das Angiotensin Converting Enzyme (ACE) vorwiegend während der Lungenpassage in das aktive Oktapeptid Angiotensin II umgewandelt wird. Angiotensin II wirkt blutdrucksteigernd und sympathomimetisch, außerdem bewirkt es eine Freisetzung von Aldosteron aus der Nebennierenrinde (Willard *et al.* 1987). Aldosteron verstärkt die Reabsorption von Natrium-Ionen im distalen Tubulus und bewirkt dadurch eine Expansion des Plasmavolumens. Dadurch wird die Freisetzung von Renin gehemmt (Thun *et al.* 1994).

Angiotensin II wirkt als starker Vasokonstriktor und senkt somit die glomeruläre Filtrationsrate über die Widerstandserhöhung der afferenten Arteriolen.

Erythropoetin wird bei adulten *Mammalia* fast ausschließlich in der Niere produziert, genauer in spezialisierten interstitiellen Zellen der Nierenrinde und stimuliert im Knochenmark die Erythropoese. Ein niedriger Sauerstoffpartialdruck im Blut fördert die Erythropoetinbildung und –ausschüttung.

Thrombopoetin stimuliert die Entwicklung von Megakaryozyten. Megakaryopoetin regt die Vorläuferzellen der Megakaryozyten zur Koloniebildung an.

Mit der Nahrung aufgenommenes oder in der Haut aus Cholesterol gebildetes Vitamin D₃ (Calcio) wird in der Leber zu 25-Hydroxycalciferol (Calcidiol) hydroxyliert und in der Niere zu 1,25-Dihydroxycholecalciferol (Calcitriol) hydroxyliert, das die aktive Form des Vit. D₃ darstellt. Die Aktivierung findet in den Mitochondrien des proximalen Tubulusepithels statt (Fromm *et al.* 2000).

1.2. Albumin

1.2.1. Historie

Albumin ist ein Bluteiweiß, das zwar vor dem frühen 19. Jahrhundert nicht namentlich erwähnt wird, aber schon von Hippokrates hinsichtlich einiger seiner physiologischen Eigenschaften bekannt war.

1840 gelingt C. Denis die Isolierung des Proteins mit Hilfe der Dialyse, zur industriellen Herstellung des Albumins sollte es aber noch über 100 Jahre dauern (List 2001).

1940 führt O. H. Wangensteen im Auftrag der US-Navy ein Untersuchungsprogramm zum Einsatz von bovinem Albumin als Blutersatz durch. Im gleichen Jahr findet die sog. Cohn-Fraktionierung (Edwin J. Cohn) in Boston statt. Cohn gelingt es, kristallines Albumin mit einem konstanten spezifischen Gewicht von 66 kDa, einer definierten elektrischen Ladung und einem isoelektrischen Punkt herzustellen. Allerdings betragen die Globulinverunreinigungen noch zwischen 0,01 % und 2 %.

1941 beginnt Wangensteen sein Testprogramm mit dem von Cohn produzierten Bovinen Albumin an ca. 50 Personen, es werden 25 – 30 g Albumin i.v. verabreicht, nach zwei Wochen findet eine Reinjektion statt.

Bei 170 neuerlichen Erstinjektionen gibt es einen Fall der Serumkrankheit, der Patient verstirbt. 1943 wird das Testprogramm der US-Navy beendet.

1918 führt F. C. Mann in den U.S.A. eine Untersuchung über experimentellen Schock und seine Ursache bei Hunden durch. Als Therapiemaßnahmen führt er den Volumenersatz mit

Kochsalzlösung (0,9 % bis 10 %), Glukoselösung mit oder ohne alkalische Flüssigkeit, Gelatinelösung oder homologem Blutserum an.

1941 beginnt das humane Albuminprogramm der US-Navy mit D. B. Kendrick. Es treten keine Probleme auf bei der Testung von Humanalbumin als Blutersatz.

Am 8. Dezember 1941 findet nach dem Angriff auf Pearl Harbor der erste dokumentierte klinische Einsatz von Humanalbumin statt.

Bis 1945 werden vom Roten Kreuz 570 000 Einheiten Humanalbumin geliefert (List 2001).

Das 1949 gegründete Zentrallaboratorium als Abteilung des schweizerischen Roten Kreuzes beginnt 1953 mit der Herstellung einer salzarmen humanen Albuminlösung durch Entsalzen des Plasmas nach H. Nitschmann und P. Kistler.

Ein Jahr später setzt sich die Alkoholfraktionierung (nach H. Nitschmann, P. Kistler und W. Lergier) durch, wodurch der Reinheitsgrad verbessert wird.

Heute wird Albumin aus gepoolten humanen Blutspenden gewonnen und durch eine modifizierte Alkoholfraktionierung gereinigt. Die Lösung wird steril filtriert und steril abgefüllt, verschlossen und für 10 Stunden bei 60 °C temperiert.

Als Stabilisatoren sind Natriumacetyltryptophanat und Natriumcaprylat zugesetzt.

Durch Zugabe von Natriumchlorid soll eine möglichst isotonische Lösung erreicht werden (Behring 2004).

1.2.2. Pharmakologie und Pharmakokinetik

Albumin ist ein natürliches Kolloid mit einer tierartspezifischen Halbwertszeit im zirkulierenden Plasma von mehreren Tagen (9 Tage beim Hund) bis zu mehreren Wochen (3 Wochen beim Pferd). Es besteht aus einer Polypeptidkette mit 584 Aminosäuren (Hartmann *et al.* 1996). Für die klinische / therapeutische Anwendung bei Tieren wird es aus dem Plasma von Spendertieren gewonnen.

Albumin weist 4 Bindungsmöglichkeiten mit unterschiedlichen Spezifitäten auf. Gebunden werden körperfremde Stoffe wie beispielsweise Dicumarol-Derivate, Benzodiazepine, Digoxin und nichtsteroidale Antiphlogistika. Körper eigene Bindungen geht Albumin mit Bilirubin, Fettsäuren, Thyroxin, Kalzium und Vitaminen ein (Pardridge *et al.* 1993).

Verabreichtes Albumin erhöht den intravasalen onkotischen Druck und das intravasale Flüssigkeitsvolumen, da es eine hohe Wasserbindungsfähigkeit besitzt.

Ein Gramm Albumin ist in der Lage, 18 g Wasser zu binden. In diesem Fall beträgt die Halbwertszeit nur noch etwa 3 Stunden (Hartmann *et al.* 1996). Bis zu 80 % des onkotischen Druckes wird durch Albumin aufrechterhalten.

Außerdem besitzt Albumin zahlreiche Sulphydrylgruppen, die die Wirkung als Radikalfänger vermitteln, besonders gegen Lipidhydroperoxide und Hypochlorsäure.

Es werden auch antithrombotische und antikoagulierende Effekte beobachtet, allerdings ist der Wirkmechanismus noch nicht vollständig geklärt. Vermutlich spielt die Bindung von Nitritoxid-Radikalen eine Rolle (Schrör *et al.* 2004).

Die Synthese des natürlichen Albumins erfolgt ausschließlich in der Leber und ist abhängig vom onkotischen Druck und von der Versorgung mit Aminosäuren. Insulin, Kortikosteroide und anabole Steroide erhöhen die Syntheserate, ebenso wie Thyroxin.

Bei entzündlichen Reaktionen ist die Albuminsynthese zugunsten der Synthese der Akute-Phase-Proteine vermindert (Blauhut 1986).

Katabolisiert werden 9 – 12 g Albumin / Tag durch Pinozytose in benachbarte Zellen des vaskulären Endothels. Der Anteil des Albumins am Gesamtproteingehalt im Blut beträgt bei Tieren zwischen 35 und 50 % (Eder 1987).

Albumin existiert zu ca. 30 % auch im extravasalen Raum, es verlässt den Blutkreislauf über das Interstitium in das Lymphsystem und gelangt über den Ductus thoracicus wieder zurück.

4 – 5 % des intravasalen Albumins verlassen die Gefäße pro Stunde. Dies wird bezeichnet als die „Transcapillary Escape Rate“ (TER). Sie ist abhängig von der kapillären und interstitiellen freien Albuminkonzentration, von der kapillären Albuminpermeabilität, von den Verschiebungen der Solute und von der elektrischen Ladung der Gefäßwände (Pedersen *et al.* 2000).

1.2.3. Albuminwirkung auf die Niere

Die Effekte unterschiedlicher Albuminkonzentrationen (von 0 bis 8 g/100 ml Perfusat) auf die isolierte Rattenniere wurden schon untersucht (Schurek *et al.* 1981). Bei Schurek *et al.* korreliert die Perfusionsflussrate positiv mit der Albuminkonzentration. Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist bei hohen Albuminkonzentrationen niedrig (GFR = 0,56 ml/min/g, Albumin 7,6 g/100 ml) und am höchsten, wenn auf den Zusatz von Albumin verzichtet wird. Dieses letzte Ergebnis unterschied sich von vorherigen Untersuchungen, bei denen in Abwesenheit von Albumin eine reduzierte GFR auftrat (Schurek *et al.* 1981).

Die Absorptionsfraktion Natrium liegt bei 50 %, wenn ohne Albumin perfundiert wird und bei nahezu 90 % bei einer GFR von 95 ml/min/g, wenn 5 - 6 g Albumin/100 ml Perfusionslösung verwendet wird. Unter diesen Bedingungen ist auch die Urinproduktion am größten (0,8 ml/min/g), die fraktionale Na⁺- und H₂O-Absorption liegen bei 50 % der Normalwerte (Schurek *et al.* 1981).

An ebenfalls isolierten Rattennieren führt eine Perfusion mit Krebs-Henseleit-Lösung mit einem Zusatz von 7,5 g Albumin pro 100 ml Perfusionslösung bei einem Perfusionsdruck von

Literaturübersicht

90 mm Hg zu einem relativ hohen Perfusionsfluss (50 ml/min). Die GFR beträgt im Mittel 0,7 ml/min, was etwa der Hälfte der GFR einer Rattenniere aus *in vivo* Kontrollen entspricht (De Mello *et al.* 1976).

Eine Perfusion mit albuminfreier Ringer-Lösung führt zu einer starken Schwellung der Rattenniere, die nur von der Nierenkapsel limitiert wird (Lohfert 1973).

Die Spülung mit einer modifizierten Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Lösung (mit Albuminzusatz von bis zu 8 g/100 ml) verursacht eine weniger starke Ödematisierung (Schurek *et al.* 1981). Es existiert ein umgekehrt proportionaler Zusammenhang zwischen Albumin und der Zunahme des Nierengewichtes während der Perfusion. Das kann durch den geringeren interstitiellen Druck im Nierengewebe erklärt werden, der bei höheren Albuminwerten besteht (Schurek *et al.* 1981).

Eine verminderte Na⁺-Absorption bei niedrigen Proteinkonzentrationen wurde experimentell schon häufiger nachgewiesen (Spitzer *et al.* 1970; Imai *et al.* 1972; Bowman *et al.* 1974).

Hintergrund für eine vermehrte Na⁺-Absorption bei höheren Proteinkonzentrationen ist der erhöhte onkotische Druck auf der peritubulären Zellseite; hierdurch wird ein Rückfluss durch die lecken Epithelien der proximalen Tubuli verhindert und der transepitheliale Transport von Soluten und Wasser begünstigt (Ullrich *et al.* 1979).

Bei einer Albuminkonzentration von 5 g/100 ml, was in etwa zu einer GFR wie bei *in vivo* Verhältnissen führt, ist der osmotische Druck in den postglomerulären Kapillaren wegen der geringeren Filtrationsfraktion nicht so hoch wie *in vivo*. Das ist eine Erklärung für die geringere fraktionalen Na⁺- und H₂O-Absorption (Schurek *et al.* 1981). Ein versuchsweise höherer Perfusionsdruck (140 mm Hg) und die Zugabe eines Vasodilatators (Verapamil) können die GFR wieder anheben.

Die Netto-Kalium-Sekretion ist abhängig von den ins Perfusat zugegebenen Substraten (Schurek *et al.* 1975). Die K⁺-Sekretion kann jedoch zu einer K⁺-Absorption bei niedrigem Urinfluss werden, nämlich dann, wenn der kolloidosmotische Druck erhöht ist (Giebisch 1979).

Die größte Barriere für das Albumin in der Ultrafiltration ist die glomeruläre Kapillarwand („glomerular capillary wall = GCW“), bestehend aus einer fenestrierten Endothelzellschicht, einer Basalmembran und einer Schicht aus Podozyten (Adal *et al.* 1995). Normalerweise befinden sich im Filtrat in der Bowman'schen Kapsel kaum Albumin oder andere Proteine. Der Grund hierfür ist eine Kombination aus Größe und elektrostatischer Ladung der Moleküle (Comper *et al.* 1995).

In der glomerulären Kapillarwand befinden sich anionisch geladene Glycosaminoglycane. Albumin bindet an die Glycoproteine des Endothels und/oder an Komponenten der extrazellulären Matrix (sog. Glykokalix). Versuche an isoliert perfundierten Rattennieren zeigen eine erhöhte Albuminpermeabilität in Anwesenheit von Enzymen, die diese

Glycoproteine beeinträchtigen bzw. zerstören. Durch die Bindung des Albumins an die Glycoproteine wird eine Schutzschicht gebildet, die die Integrität der vaskulären Barriere verstärkt, so auch in den Glomeruli (Adal *et al.* 1995).

Die Bindung ist höchstwahrscheinlich ionischer Art, Albumin ist ein hochpolares Molekül mit 182 geladenen Seitenketten, davon sind 100 negativ und 82 positiv geladen (Rosenzweig *et al.* 1982; Huxley *et al.* 1985; Peters 1985; Ghitescu *et al.* 1986; Ghinea *et al.* 1988; Margaron *et al.* 2002).

Neuere Untersuchungen belegen, dass Albumin auch unter physiologischen Bedingungen zu einem geringen Teil filtriert und wieder absorbiert wird:

Bei intakter Glomerulusfiltration werden Globuline (α -, β - und γ -Globuline) durch die semipermeable Filterbarriere zurückgehalten, Albumin wird aufgrund des hohen Molekulargewichtes zu weniger als einem Prozent filtriert (Hellige *et al.* 2000).

2001 wurde der Absorptionsweg für glomerulär filtriertes Albumin mittels Radioaktivität (mit Tritium gekennzeichnetes Albumin) in der Rattenniere erforscht (Tack *et al.* 1980; Eppel *et al.* 2001). Die spezifische Albuminabsorption ist sowohl *in vivo* als auch in isoliert perfundierten Nieren nachgewiesen worden. In einer nicht filtrierenden Niere wird kein Albumin absorbiert, außerdem kann durch NH_4Cl (Ammoniumchlorid) die tubuläre Proteinaufnahme inhibiert werden ohne die glomeruläre Größenselektivität zu verhindern. Eine kompetitive Hemmung kann zusätzlich durch Albumin-Peptide entstehen.

Vermutlich ist dieser Albumin-Rückweg mit transtubulären Zelltransporten assoziiert.

Als Ursache für Albuminurie kommt somit nicht nur eine Störung in der glomerulären Filtrationsbarriere in Frage, sondern kann unabhängig von der Filtrationsbarriere durch eine Blockade der Albuminabsorption verursacht werden (Tack *et al.* 1980; Eppel *et al.* 2001).

1.2.4. Klinische Anwendung

Ein wichtiges Anwendungsgebiet von Albumin ist die Behandlung der Hypovolämie, es dient als Volumenexpander.

Ebenso wird es zur Therapie der Hypoproteinämie und Hypoalbuminämie (<15 g/l Blut) eingesetzt, wie auch zur Behandlung von Verbrennungen, bei Hämorrhagien, in der Chirurgie, bei kardiovaskulärem Kollaps und akutem Leberversagen (Hartmann *et al.* 1996).

Bei Verbrennungen wird Albumin innerhalb von 24 Stunden zur Erhaltung des onkotischen Druckes gegeben, nachdem eine ausreichende Volumensubstitution mit kristalloiden Infusionslösungen erfolgt ist.

Bei einem akuten Leberversagen hält Albumin wiederum den onkotischen Druck aufrecht, steht aber gleichzeitig auch als Bindungspartner für Bilirubin zur Verfügung (Tullis 1977).

Außerdem findet Albumin Verwendung als stabilisierendes Ausgangsmedium im pharmazeutischen-biotechnologischen Bereich, in Zellkulturverfahren und als Trägersubstanz für pharmakologisch wirksame Substanzen („Drug-Delivery-Vehicle“) (Behring 2004).

1.3. Ischämie

Unter physiologischen Bedingungen erhält die Niere 20 % des kardialen Volumens. Dies ist notwendig für ihre Filterfunktion. Die Niere bekommt so 80 ml O₂/min/100 g NG, davon benötigt sie aber nur einen geringen Anteil (Heyman *et al.* 1997).

Trotz dieser offensichtlichen Sauerstoffübersversorgung ist der proximale Tubulusapparat, der vom Kapillarbett des peritubulären Plexus versorgt wird, höchst empfindlich gegenüber hypoxischen Zuständen (Heyman *et al.* 1997; Dittrich *et al.* 2000).

Bei einer Unterbrechung der Blutzufuhr werden die aktiven Ionentransporte gestört und die Konzentrationsgradienten können nicht mehr aufrechterhalten werden. Dies führt zu einer Verminderung des Membranpotentials und zu einer Vermehrung der osmotisch wirksamen Substanzen in der Zelle, was eine Ödematisierung der Zelle durch Wassereinstrom bewirkt.

Die intrazellulären Na⁺-, Cl⁻ - und Ca²⁺ - Konzentrationen steigen, die Konzentrationen von Kalium und Phosphat in der Zelle sinken (Beck *et al.* 1992).

Durch die Ödematisierung im Gefäßendothel kommt es zusätzlich zu einer Lumeneinengung, die die Blutzufuhr weiter verschlechtert (Daugharty *et al.* 1974; Daugharty *et al.* 1975).

Die Zellen im Nierenmark sind besonders ischämieempfindlich, da dort schon unter physiologischen Bedingungen eine sehr niedrige Sauerstoffspannung vorherrscht (Mason *et al.* 1983; Mason *et al.* 1987).

Polymorphkernige neutrophile Granulozyten akkumulieren häufig in ischämischen Nieren. Dies verschlimmert die Schäden durch die anschließende Reperfusion (Lauriat *et al.* 1998). Durch die Leukozyten werden freie Radikale und Entzündungsmediatoren freigesetzt, diese

begünstigen durch eine Schädigung der Endothelzellschicht einen Austritt von Zellflüssigkeit ins umliegende Interstitium (Beck *et al.* 1992).

Wenn die Möglichkeiten der anaeroben Glycolyse ausgeschöpft sind, kommt es als Folge der Ischämie zu einem Abfall der ATP-Konzentration als Energieträger in den Zellen. Tubuluszellen können nur in sehr begrenztem Umfang von der aeroben auf die anaerobe Glycolyse umstellen, und sind auch aus diesem Grund zusätzlich ischämieempfindlich (Eckhart *et al.* 2004).

Eine Ischämie (abhängig von der Dauer) verursacht ein akutes Nierenversagen.

Das akute Nierenversagen ist charakterisiert durch eine Verschlechterung der Nierenfunktionen über einen Zeitraum von mehreren Stunden oder Tagen mit einem resultierenden Unvermögen, die harnpflichtigen Stoffe auszuschcheiden und die Flüssigkeits- und Elektrolythomöostase aufrecht zu erhalten.

Ein großer Teil der tubulären Zellschädigungen sind subletal oder reversibel. Akutes ischämisches Nierenversagen verursacht also nicht nur Nekrosen und Apoptosen, sondern auch Zelldysfunktionen (Edelstein *et al.* 1997).

Deutlichstes Zeichen eines akuten Nierenversagens ist die Verminderung der glomerulären Filtrationsrate (Brezis *et al.* 1984; Thadhani *et al.* 1996; Jorres 2002; Jorres 2002; Joannidis *et al.* 2005; Sinert *et al.* 2005).

1.4. Reperfusionsschäden

„Zellulärer Stress“ und die darauf folgende Entstehung reaktiver Sauerstoffradikale, verursacht durch den Sauerstoffmangel während der warmen und kalten Ischämiephasen, gelten als Ursachen für Reperfusionsschäden (Daugharty *et al.* 1975; Riera *et al.* 1997). Dabei verschlechtern sich die tubulären und glomerulären Funktionen der Nieren (Glazier *et al.* 1978; Siegel *et al.* 1980).

Eine sog. „reperfusion injury“ entsteht. Zuvor reversibel geschädigte Zellen sind nun irreversibel geschädigt. Das Wiederangebot von Blut nach der Ischämiephase in verengten Mikrogefäßen führt zu einer Stauung der Erythrozyten und dem sog. „Red Cell Trapping“. Dieser Effekt kann den renalen Blutfluss auf bis zu 50 % reduzieren (Brasile *et al.* 1997; Brasile *et al.* 1997).

Die in der Zellmembran vorhandene Na^+/K^+ -ATPase hält physiologischerweise den Gradienten der intra- und extrazellulären Natrium- und Kaliumkonzentration aufrecht.

Literaturübersicht

Während einer ischämischen Phase wird zuviel ATP aufgebraucht, um diese Pumpe noch aufrecht zu erhalten. Das Membranpotential kann nicht mehr erhalten werden, Na⁺-, Cl⁻- und Ca²⁺-Ionen strömen in die Zellen, Wasser folgt passiv, die Zellen ödematisieren, das Komplementsystem wird aktiviert.

Durch die einsetzende anaerobe Glycolyse fällt vermehrt Laktat an, der pH-Wert sinkt (Bigaud *et al.* 1998; Knight *et al.* 2001; Dittrich *et al.* 2002).

Die hohe intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration und die freien Sauerstoffradikale bewirken eine Aktivierung verschiedener Enzyme, u. a. der Phospholipase A₂, es werden vermehrt Membranphospholipide abgebaut, in der Folge kommt es zu einer Anschwemmung von Arachidonsäure (Bilzer *et al.* 1994; Bigaud *et al.* 1998).

Aus Arachidonsäure entstehen 5-Lipoxygenaseprodukte wie Leukotrien B₄, Cyclooxygenaseprodukte wie 6-Keto Prostaglandin F 1a, Thromboxan B₂ und das Phospholipid PAF (Imaizumi *et al.* 1995). Dies sind Entzündungsmediatoren, die eine Durchlässigkeit von Zellen und Zellschichten verursachen und dadurch u. a. zu einer Ödembildung führen.

Die Zerstörung der Integrität der Zellwände ist nachweisbar durch einen Anstieg der Laktatdehydrogenase-Konzentration (LDH) im Blut, einem physiologischerweise intrazellulär lokalisierten Enzym (Lehninger *et al.* 1998; Yamauchi *et al.* 2003).

Die Permeabilitätsstörungen verursachen extravasale Ödeme, was als „remote injury“ bezeichnet wird. Das Öffnen zuvor geschlossener Gefäße ermöglicht ein Anfluten pro-inflammatorischer Mediatoren, toxischer Stoffwechselprodukte und aktivierter Zellen (Inman *et al.* 2003).

Eine zuvor lokalisierte Entzündung breitet sich im ganzen Körper aus, es finden Reaktionen mit dem Endothel anderer Organe statt, es kann zur Entstehung eines „Systemic Inflammatory Response Syndrome“ kommen (Lozano *et al.* 2005).

Hierbei spielen Polymorphkernige Neutrophile Leukozyten (PMN) eine wichtige Rolle. Unter normalen Umständen kommt es nicht zur Leukozytenadhäsion an das Gefäßwandendothel. Infolge eines Reperfusionsschadens sind sie allerdings derart stimuliert, dass sie am Endothel haften bleiben können. Diese Reaktion wird vermittelt durch den Plättchenaktivierenden Faktor (PAF), der durch eine Gruppe von Adhäsionsmolekülen, (nämlich das intrazelluläre Adhäsionsmolekül I, E-Selektin und P-Selektin) auf der Endotheloberfläche exprimiert wird, ebenso wie von einigen Glykoproteinen auf der Leukozytenoberfläche, den Leukozyten-Adhäsionsmolekülen bzw. Integrinen der CD11/CD18 – Familie (Linan *et al.* 1988; Klausner *et al.* 1989; Imaizumi *et al.* 1995; Lauriat *et al.* 1998; Dittrich *et al.* 2002).

Literaturübersicht

In vitro Versuche zeigen, dass diese Mechanismen durch Hypoxie von endothelialen Zellen selbst schnell in die Wege geleitet werden, und somit für die vermehrte Adhäsion der PMN verantwortlich sind (Arnould *et al.* 1993).

Um die Reperfusionsschäden möglichst gering zu halten, werden einerseits die Konservierungslösungen immer weiter verbessert, zusätzlich wird an anderen Techniken geforscht (Ametani *et al.* 1990; Barber *et al.* 1991; Collins *et al.* 1992; Baeyer *et al.* 1997; Brasile *et al.* 1997; Yoshida *et al.* 2002; Canelo *et al.* 2003; Guarrera *et al.* 2004).

Anstelle der kalten Konservierung, die lange Zeit als Standard angewandt wurde, werden nun auch Versuche mit einer warmen Organkonservierung durchgeführt. Diese Technik heißt „exsanguinous metabolic support“ (EMS). Perfundiert wird mit einer azellulären Perfusionslösung bei 32° C. Die Möglichkeit, verengte Mikrogefäße mit einer azellulären Flüssigkeit bei nahezu physiologischen Temperaturen zu perfundieren, soll das „Red Cell Trapping“ verhindern. Außerdem bleiben die Phospholipide der Zellmembranen fluide und damit flexibel (Brasile *et al.* 1997).

Durch Zugabe verschiedener Substanzen nach der Organentnahme und vor der Transplantation wird versucht, Reperfusionsschäden zu vermeiden bzw. gering zu halten (Erkasap *et al.* 2000; Dittrich *et al.* 2002; Erkasap *et al.* 2002; Inman *et al.* 2003).

Es handelt sich um Zusätze wie Glutathion, das als Radikalfänger wirkt und besonders im Bereich der Lebertransplantation Verwendung findet (Southard *et al.* 1991). Das atriale natriuretische Peptid (ANP) wird zur hormonellen Prävention bei der Vorbehandlung der Leber eingesetzt (Bilzer 1998). Auch Lidocain wird zugesetzt (Erkasap *et al.* 2002). Es wirkt als Na⁺/Ca²⁺-Kanal-Blocker, als Superoxid- und Hydroxyl-Radikalfänger, als Entzündungsmodulator und als potenter Inhibitor der Granulozytenfunktionen (Cassutto *et al.* 2003).

Neben dem Zusatz von Stoffen gibt es auch die Möglichkeit einer ischämischen Präkonditionierung. Kurze Ischämieperioden vor längerer Ischämie bewirken eine Organprotektion. Am Beispiel der Leber verbessert diese Präkonditionierung die hepatische Mikrozirkulation nach warmer Ischämie durch Verminderung der Leukozytenadhärenz an sinusoidales und postsinusoidales Endothel (Schauer *et al.* 2003).

1.5. Konservierungslösung und Organkonservierung

Um zu transplantierende Organe bestmöglich zu erhalten, werden diese Organe in den meisten Fällen kalt konserviert. Je nach Empfindlichkeit des Organs kann es so mehrere Stunden oder Tage bis zur Operation gelagert werden. Vorteile der kalten Konservierung sind die einfache Durchführbarkeit, die geringen Kosten und der wiederholbare Einsatz.

Während der hypothermen Phase haben unterschiedliche Konservierungslösungen unterschiedliche protektive Qualitäten. Die Stoffwechselfunktionen sind auf ein Minimum beschränkt. In der anaeroben Phase sind die Energiereserven limitiert.

Ziel einer Konservierung ist es, Organfunktionen, Energiereserven und morphologische Strukturen des Organs möglichst zu erhalten. Von herausragender Bedeutung ist dabei die Erhaltung eines physiologischen pH-Wertes.

Die Konservierung eines Organs beginnt mit der Perfusion des Organs im Spender durch die Konservierungslösung.

Bei der *Euro-Collins-Lösung* handelt es sich um eine Konservierungslösung, die in ihrer Zusammensetzung der intrazellulären Elektrolytverteilung ähnelt.

Durch den Zusatz von Glukose findet allerdings bei hypothermen Bedingungen eine gesteigerte Laktatproduktion statt, wodurch der pH-Wert vermindert wird und der Entstehung von Zellödemen Vorschub geleistet wird (Hrabalova *et al.* 2003).

Mit der *Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung* (Custodiol®) wird seit 1978 gearbeitet. Seit 1985 werden Konservierungslösungen mit Histidin-Zusatz vermehrt in der Herztransplantation eingesetzt, dann auch in der Leber- und Lungentransplantation. Histidin und Histidinhydrochlorid haben die Funktion eines Puffers, sie verlangsamen den Abfall des pH-Wertes. Bei der HTK-Lösung handelt es sich um eine „extrazelluläre“ Konservierungslösung, die Zellmembranen behalten ihr normales Ruhepotential. Ein Na⁺- und Ca²⁺-Einstrom wird verhindert, die Zellen werden nicht aktiviert.

Mannitol fungiert hierbei als Antioxidans und verhindert durch seine onkotischen Eigenschaften Zellödeme.

Tryptophan weist einen membranstabilisierenden Effekt auf und Kalium-Hydrogen-2-Ketoglutarat stellt ein Substrat für die aerobe Energiegewinnung dar (Hrabalova *et al.* 2003).

Die *University of Wisconsin-Lösung* (UW) ist die heute am häufigsten gebrauchte Konservierungslösung für die kalte Lagerung von Spenderlebern. Sie wird auch für die kalte Konservierung von Pankreas, Niere und Lunge verwendet (Bessems *et al.* 2004).

Literaturübersicht

Die osmotische Konzentration der UW-Lösung (Viaspan®) wird durch metabolisch inerte Substanzen wie Laktobionat und Raphinose erhalten. Hydroxy-Ethyl-Stärke (HES) minimiert durch onkotische Eigenschaften Zellödeme. Glutathion, Allopurinol und Adenosin werden als Radikalfänger zugegeben (Hrabalova *et al.* 2003).

In der *Baeyer II-Konservierungslösung* verhindert eine hohe K^+ -Konzentration (es handelt sich um eine intrazelluläre Konservierungslösung) den K^+ -Ausstrom aus der Zelle. Die Zugabe von Mg^{2+} -Ionen verhindert den Ca^{2+} -Strom zelleinwärts, und SO_4 blockiert den Cl^- - und Bicarbonat-Transport. Polyethylenglykol (PEG) mit einem molekularen Gewicht von 4 000 Dalton ermöglicht Flüssigkeitsbewegungen innerhalb der kapillären Gefäße und dichtet verletzte Gefäße ab. Zusätzlich geht PEG eine Verbindung mit der Superoxid-Dismutase ein, wodurch sowohl der initial hohe ATP-Verbrauch als auch die Lipidoxid-Produktion reduziert werden (Baeyer *et al.* 1997; Fehrenberg *et al.* 2004).

Polyethylenglykol schützt die Morphologie von Aktin und dem mikrotubulären Netzwerk in gekühlten Leberzellkulturen. Es verhindert eine osmotische Schwellung in kalt konservierten Nieren und Herzen und schützt die renalen Tubuli vor Kälteschäden (Robinson 1971; Bonventre *et al.* 1992; Hauet *et al.* 1998; Hauet *et al.* 2000).

Literaturübersicht

Inhaltsstoffe	Einheit	Eigenschaft	B2	UW	EC	HTK
Na ⁺	mmol/l	Kation	22	30	10	150
K ⁺	mmol/l	Kation	150	125	115	9
CL ⁻	mmol/l	Anion	10		15	50
Mg ⁺⁺	mmol/l	Kation	10	5		4
Sulfat	mmol/l	Puffer	85	5		
Bicarbonat	mmol/l	Puffer			10	
Phosphat	mmol/l	Puffer	6	25	58	
Lactobionat	mmol/l	Puffer		100		
Glucose	mmol/l	Zucker			194	
Saccharose	mmol/l	Zucker	40			
Raffinose	mmol/l	Zucker		30		
HES	g/l	Kolloid		50		
Dextran40	g/l	Kolloid				
PEG	mmol/l	Kolloid	25			
Mannitol	mmol/l	Kolloid				30
Histidin	mmol/l					198
Adenosin	mmol/l	Energiequelle		5		
Allopurinol	mmol/l	Radikalfänger		1		
Gluthathion	mmol/l	Radikalfänger		3		
Osmolarität	(mosmol/l)			335	320	

Tabelle 1: Zusammensetzung verschiedener Konservierungslösungen (Fehrenberg *et al.* 2004)

B2: Baeyer-II-Konservierungslösung; UW: University of Wisconsin-Lösung; EC: Euro-Collins-Lösung; HTK: Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung

Bei 4 °C ist der Stoffwechsel in einem Organ auf unter 5 % der Normalaktivität reduziert. Dafür ist die kalte Konservierung hinsichtlich des Sauerstoffangebotes ausreichend.

Allerdings ist die Erhaltung des Zellvolumens und der Ionen-Zusammensetzung ein energieraubender Prozess, der physiologischerweise über die Atmungskette bewirkt wird. Außerdem sind die Lipide in den Zellmembranen derart durch die Kälte beeinträchtigt, dass sie einen erfolgreichen Sauerstoff- und Energietransport in die Zelle zunichte machen.

Auch das prinzipielle Ansteigen des Verhältnisses von Laktat zu Pyruvat während der kalten Konservierung weist auf einen ungenügenden oxydativen Metabolismus bei dieser Konservierungsform hin (Brasile *et al.* 1997).

Literaturübersicht

Aus diesem Grund bevorzugen Brasile et al. (1997) ein neues Modell der Organerhaltung. Sie setzen der Perfusionslösung einen emulgierten Perfluor-chemischen Sauerstoff-Carrier zu, der es ermöglichen soll, das Organ bei 32 °C zu perfundieren.

Von der Fa. Breonics wird 1997 eine neue Technologie zur nahezu körperwarmen Perfusion von Organen vor Transplantationen, den sog. „exsanguineous metabolic support“ (EMS) vorgestellt. Damit soll die Erhaltung eines Organs nach einer mehr als 30-minütigen warmen Ischämiezeit möglich sein. Perfundiert wird mit einer angereicherten azellulären Gewebekulturlösung.

Hundenieren, die *in vitro* in diesem EMS-System perfundiert wurden, zeigten anfänglich Vasokonstriktionen, die aber bald nachließen und gute Perfusionsflussraten erzielten. Die Urinproduktion nach der Reimplantation setzte einige Stunden später ein.

Dieser Versuch zeigt also, dass unter bestimmten Umständen auch ein azelluläres Perfusionsmedium geeignet sein kann, um Reperfusionsschäden an Nieren zu vermindern (Brasile et al. 1997).

1.6. Schwein als Organspender und Normwerte

Das Schwein wird wegen seiner physiologischen Ähnlichkeiten zum Menschen häufig in der Forschung eingesetzt, nämlich in der Immunologie, Anästhesiologie, Pharmakologie, Chirurgie, Kardiologie, Nephrologie und auch in der Transplantationsmedizin (Swindle 1992).

Die Schweineniere besteht wie die menschliche Niere aus ca. 2 Millionen Nephronen, die Nierenlappen sind vollständig miteinander verschmolzen (glatte Niere), die Spitzen der Markpyramiden sind nicht verschmolzen (mehrwarzige Niere) (Weiss 1999).

Sie ähnelt anatomisch und morphologisch der Niere des Menschen mehr, als dies bei anderen Tieren der Fall ist (Nielsen *et al.* 1966; Gyrd-Hansen *et al.* 1969).

Beim Schwein besteht kein signifikanter Gewichtsunterschied zwischen rechter und linker Niere (Rieger 1989), ebenso wenig wie geschlechtsabhängige Unterschiede der Nieren (Thiessen 1976).

Das Schwein eignet sich auch wegen des Handlings für Tierversuche, bei intensiver Betreuung kann es auch im unsedierten Zustand untersucht werden (Nielsen *et al.* 1966).

In den u. a. Tabellen sind Referenzwerte aus der Literatur zu hämatologischen, klinisch-chemischen Parametern und der Urinbildung/Zeiteinheit zu sehen.

Vergleichende Untersuchungen an Schweinen zur endogenen Kreatinin-Clearance und zur Inulin-Clearance erbrachten das Ergebnis, dass die Kreatinin-Clearance des Schweins nach (Waldmann *et al.* 1991) als Analog für die glomeruläre Filtrationsrate geeignet ist. Die Kreatinin-Clearance zeigt allerdings durchschnittlich 7 % höhere Werte als die anhand von Inulin ermittelte GFR an, was auf eine zusätzliche tubuläre Kreatininsekretion schließen lässt (Wendt *et al.* 1990).

Für klinische Nierenfunktionsprüfungen ist die Kreatinin-Clearance jedoch ausreichend repräsentativ für die GFR (Waldmann *et al.* 1991).

Autor	Erythrozyten	Hämatokrit	Hämoglobin	Leukozyten	MCV	MCHC
	x 10 ⁶ /µl	%	mmol/l	x 10 ³ /µl	fl	g/dl
(Schmidl 1981)	5,8-8,1	33-45	6,7 - 8,9	10,5-21,3		
(Abelseth 1986)	5,0-8,0	32-50	6,2 – 9,9	11,0-22,0	50-68	30-34
(Eder 1987)	5,0-8,0	42	6,2 – 9,9	8,0-16,0		
(Kraft 1989)	5,8-8,1	33-45	6,8 - 9,3	11-21,0	57-61	30-35

Tabelle 2: Hämatologische Referenzwerte gesunder juveniler und adulter Schweine

Literaturübersicht

	Harnstoff	Kreatinin	Gesamteiweiß	Albumin	Natrium	Kalium
Autor	mmol/l	µol/l	g/l	g/l	mmol/l	mmol/l
(Schmidl 1981)	104 - 292	bis 221	55,4 - 85,4	35,4 - 47,4	142 - 160	4,9 - 6
(Abelseth 1986)	105 - 315	70 - 203	58 - 83	32 - 43	139,2 - 152,5	4,4 - 6,5
(Kraft 1989)	bis 192	bis 221	55 - 85	35 - 47	135 - 170	4,5 - 6,5
(Waldman und Wendt 1991)	173	70,7	54,9		141	4,01

Tabelle 3: Klinisch-chemische Referenzwerte gesunder juveniler und adulter Schweine

Autor	ml/min/kg
(Gyrd-Hansen 1968)	0,007 – 0,19
(Mornet 1982)	0,004 – 0,02
(Waldmann und Wendt 1991)	0,034
(Gyrd-Hansen, Lund <i>et al.</i> 1969)	
unilateral nephrektomiert	
10 Tage post operationem	0,012 - 0,015
73 Tage post operationem	0,017 - 0,025

Tabelle 4: Referenzwerte zur Urinbildung/Zeiteinheit bei gesunden (Gyrd-Hansen 1968; Mornet 1982; Waldmann und Wendt 1991) und unilateral nephrektomierten (Gyrd-Hansen, Lund et al. 1969) juvenilen und adulten Schweinen

1.7. Isolierte normotherme Hämoperfusion

Isolierte Organperfusionen wurden und werden u. a. an Rattennieren durchgeführt und dienen z. B. der Grundlagenforschung bezüglich der Druckverhältnisse in der Niere (Frodin *et al.* 1975). 1989 wurden Untersuchungen an der Rattenniere zu Mannitol durchgeführt, um herauszufinden, welche Ursachen dem vasodilatativen Effekt des Mannitols zugrunde liegen (Johnston *et al.* 1981). Toxizitätsprüfungen (DDT) wurden noch früher durchgeführt (Datta *et al.* 1968).

Es besteht auch die Möglichkeit, einzelne Nephronen isoliert zu perfundieren (Sonnenberg *et al.* 1964; Frodin *et al.* 1975; Brezis *et al.* 1984).

In den 60er Jahren finden die ersten isolierten Perfusionen an Hundenieren statt. Auch hier wurden Fragestellungen zum Zusatz von Mannitol bearbeitet (Messmer *et al.* 1966), aber auch transplantationsrelevante Untersuchungen durchgeführt (Saltzstein *et al.* 1966).

An isoliert perfundierten Schweinenieren sind Untersuchungen zu Flussraten, zu Perfusionsdrücken (Paquet 1965 b) und der Bildung und Freisetzung endogener Substanzen durchgeführt worden (Gotoh *et al.* 1982; Ohde *et al.* 1982).

Neben der Grundlagenforschung und der Beantwortung klinischer Fragestellungen (Kohrmann *et al.* 1994) sind isolierte Organperfusionen von Nutzen für die Verbesserung von Therapieformen in der Transplantationsmedizin (Semb *et al.* 1968; Jablonski *et al.* 1983; van den Eijnden *et al.* 2003) und zur Optimierung von Konservierungslösungen (Collins *et al.* 1992; Bessems *et al.* 2004)

Das Modell der isolierten Organperfusion stellt außerdem eine Ersatzmethode zum Tierversuch dar (BMVEL 2005). Pharmakologische und toxikologische Substanzen können anhand ihrer Wirkung auf einzelne Organsysteme in Vorversuchsreihen getestet werden (Chamorro *et al.* 2004; Hendriks *et al.* 2004).

Der Einsatz von Albumin wurde an Rattennieren (Schurek *et al.* 1981) untersucht, ebenso wie die Interaktion Albumins mit dem glomerulären Kapillarendothel (Adal *et al.* 1995) oder die Auswirkungen unterschiedlicher Albuminkonzentrationen auf den Wasser- und Elektrolyttransport in der Niere (Bowman *et al.* 1974).

Um die Vorgänge im isolierten Organ möglichst nahe an die physiologischen Verhältnisse anzupassen, ist es nötig, körperwarm zu perfundieren. Enzyme und Membranlipide haben hier ihr Funktionsmaximum (Brasile *et al.* 1997).

Im Vergleich zu zellfreien Perfusionsmedien ermöglicht die Blutperfusion die Untersuchung von Nierenparametern unter nahezu physiologischen Bedingungen (Grosse-Siestrup *et al.* 2002).

1998 wird das isoliert normotherme Perfusionsmodell erstmals an aus dem Schlachtprozess gewonnenen Schweinenieren mit Hilfe eines Dialyse-Hohlfasermoduls beschrieben (Dittrich

Literaturübersicht

et al. 1998). Voraussetzung hierfür ist das Vorhandensein der logistischen Bedingungen für diese Variante, ein Schlachthof muss sich innerhalb eines gewissen räumlichen Radius befinden, da für bestimmte Versuche die warme und kalte Ischämiezeit zeitlich begrenzt werden müssen.

Bisherige Methoden der isolierten Organperfusion konnten sich wegen funktionaler Defizite nicht als Tierversuchersatzmethoden durchsetzen. Die ansteigende bakterielle Besiedlung von Organ und Apparatur, sowie das Fehlen von Korrekturmöglichkeiten des Blutes in Bezug auf niedermolekulare Solute, schließt Langzeitexperimente aus.

In der isolierten normothermen Hämoperfusion wird das Blut sowohl durch Gasaustausch arterialisiert als auch durch Dialyse entgiftet (Baeyer *et al.* 1997)

1998 findet eine Untersuchung an isoliert hämoperfunden Nieren statt, die Schweinen während der Schlachtung entnommen wurden. Nach einem anfänglichen Abfall des Organwiderstandes wird nach etwa 45 min ein steady state erreicht. Die Nieren werden für 139 ± 45 min perfundiert. Die Filtrationsfraktion ist nahezu normal, die GFR gering reduziert, im Urin ist die Na^+ -Konzentration erhöht und die K^+ - Konzentration erniedrigt. Vermindert ist außerdem die fraktionelle Na^+ - Absorption. Bei einem Anstieg des Hämatokrits auf 39 (l/l) besteht eine stark veränderte Filtrationsdynamik. Die Filtrationsfraktion, die glomeruläre Filtrationsrate, der Na^+ - Transport und der Sauerstoffverbrauch sind stark reduziert (Dittrich *et al.* 1998).

In einem Versuch von Hauet und Faure am isoliert perfundenen Schweinmodell werden 1998 Nieren mit homologem Donorblut perfundiert, eine andere Gruppe mit Krebs-Henseleit-Lösung und HES-Zusatz, eine weitere Gruppe mit Krebs-Henseleit und Albuminzusatz (4%) und die letzte Gruppe mit Krebs-Henseleit und Gelatinezusatz. Alle Schweinenieren werden direkt im Anschluss an die Entnahme perfundiert, es findet keine kalte Konservierung statt. Der Zusatz von HES steigert die Natrium- und Glucoseexkretion der Nieren und vermindert den renalen Blutfluss und die glomeruläre Filtrationsrate. HES induziert an den Nieren eine osmotische Nephrose. Der Albuminzusatz führt zu einer vermehrten Natriumreabsorption im Vergleich zur HES-Gruppe (Hauet *et al.* 1998).

1.8. Lineare Regression von Sauerstoffverbrauch und Natriumreabsorption

Unter *in vivo* Bedingungen ist die Natriumreabsorption derjenige Prozess in der Niere, der den größten Anteil des renalen Sauerstoffverbrauchs ausmacht. Beide Parameter korrelieren im lebenden Organismus unter physiologischen Bedingungen positiv miteinander (Baeyer *et al.* 1997).

Zur Darstellung der Kopplung dieser beiden Parameter (Sauerstoffverbrauch und Natriumreabsorption) wurde für unsere Auswertung eine **lineare Regression** gewählt.

Das Bestimmtheitsmaß R^2 ist das Quadrat des Pearson'schen Korrelationskoeffizienten (R) und zeigt an, in welchem Maß die Varianz einer Variablen durch die Varianz einer anderen Variablen bestimmt wird. R^2 gibt den Zusammenhang von untersuchten Datenreihen (Variablen) an. Die Werte für R^2 können zwischen 0 (kein Zusammenhang) und 1 (starker Zusammenhang) liegen.

Der Pearson'sche Korrelationskoeffizient R liegt immer zwischen -1 (starke negative Korrelation) und 1 (starke positive Korrelation). Der Punkt auf der Y-Achse, der von der Geraden geschnitten wird, gibt den basalen Sauerstoffverbrauch der erfassten Organe an.

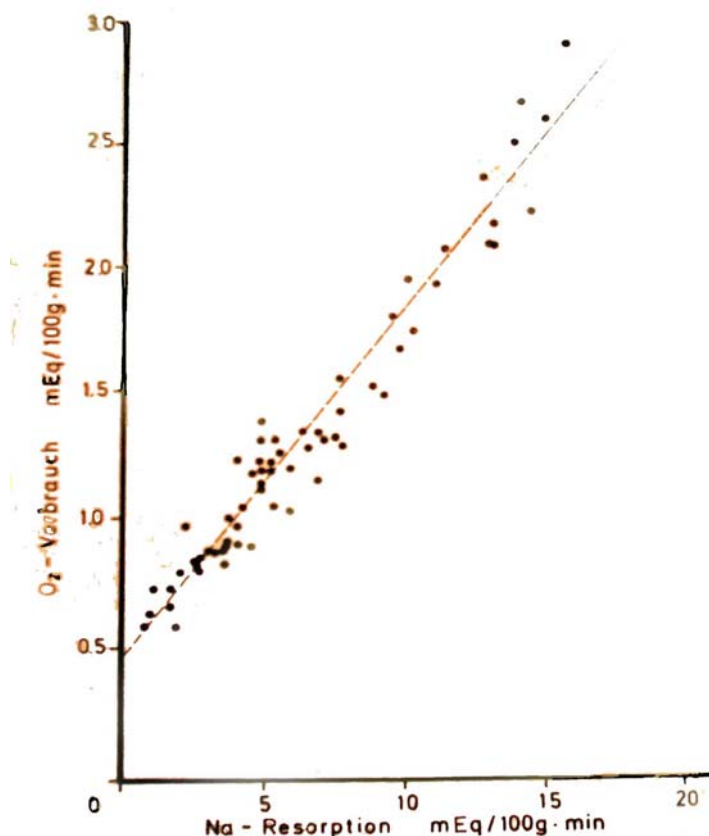


Abbildung 1: Beziehung zwischen O₂-Verbrauch und Na-Absorption von Hundenieren bei verschiedenen experimentellen Variationen des Na-Angebotes an die Nieren (Deetjen *et al.* 1976)

Literaturübersicht

Aus Abbildung 1 geht die Beziehung zwischen Energieaufwand und aktivem Natriumreabsorption hervor: In den Nieren lebender Hunde wurden der Sauerstoffverbrauch und die Natriumreabsorption gemessen. Dabei wurde das Glomerulusfiltrat durch Drosselung der arteriellen Blutzufuhr variiert und damit auch das Natriumangebot an den Tubulusapparat (Deetjen *et al.* 1976).

Bei sinkender Natriumreabsorptionsrate sank proportional auch der Sauerstoffverbrauch. Bei fehlender Natriumreabsorption (an der nicht filtrierenden Niere) wurde ein basaler Sauerstoffverbrauch erreicht, der dem Ruheumsatz anderer epithelialer Organe ähnelt (Deetjen *et al.* 1976). Nach Abbildung 1 werden pro mEq Sauerstoff 6,9 – 7,7 mEq Natrium transportiert.

Fromm und Hierholzer geben den Sauerstoffverbrauch in Säugetiernieren mit 250 $\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$ an. Pro verbrauchtes mmol O_2 werden danach sogar 28 mmol Natrium transportiert (Fromm *et al.* 2000).