

Aus dem Institut für Arbeitsmedizin,
Charité Universitätsmedizin Berlin

eingereicht
über den Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Untersuchung zum Einfluss von drei Organkonservierungslösungen (HTK-Lösung,
Baeyer-2-Lösung, HTK-Lösung mit Iloprostzusatz) auf die Nierenfunktion im Modell
der isoliert hämoperfundenen Schweineniere**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Almut Wallstab
Tierärztin aus Magdeburg

Berlin 2012

Journal-Nr.: 3617

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: PD Dr. Christian Große-Siestrup
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Dr. David Groneberg
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Karl Heinz Lahrmann

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):
pigs, kidneys, perfusion, renal function, preservation, prostacyclin

Tag der Promotion: 02.05.2013

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen
Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über
<<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-312-7

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2013

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.
Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder
Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in
irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, verviel-
fältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch
ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Waren-
zeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann
benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.
No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authori-
zation of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2013

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

| | |
|--|-----------|
| INHALTSVERZEICHNIS | I |
| ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | IV |
| 1 EINLEITUNG | 1 |
| 2 AUFGABENSTELLUNG | 3 |
| 3 LITERATURÜBERSICHT | 4 |
| 3.1 Konservierung isolierter Organe | 4 |
| 3.1.1 Konservierungsmöglichkeiten | 4 |
| 3.1.1.1 Hypotherme Lagerung | 4 |
| 3.1.1.2 Hypotherme maschinelle Perfusion | 4 |
| 3.1.2 Konservierungslösungen | 6 |
| 3.1.2.1 Euro-Collins-Lösung | 6 |
| 3.1.2.2 UW-Lösung | 6 |
| 3.1.2.3 HTK-Lösung | 6 |
| 3.1.2.4 Celsior-Lösung | 7 |
| 3.1.2.5 Baeyer-2-Lösung | 7 |
| 3.1.2.6 Konservierungslösungen im Vergleich | 8 |
| 3.2 Iloprost | 9 |
| 3.2.1 Physikalische und chemische Eigenschaften | 9 |
| 3.2.2 Pharmakokinetik | 10 |
| 3.2.3 Pharmakodynamik | 10 |
| 3.2.3.1 Vasodilatation | 11 |
| 3.2.3.2 Hemmung von Thrombozytenaggregation und Leukozytenadhäsion | 11 |
| 3.2.3.3 Wirkung auf den peripheren Gefäßwiderstand | 11 |
| 3.2.3.4 Profibrinolytische Wirkung | 11 |
| 3.2.4 Bisheriger Einsatz | 12 |
| 3.3 Alternativmethoden zum Tierversuch | 13 |
| 3.3.1 Computermodelle | 14 |
| 3.3.2 Bakterienkolonien | 14 |
| 3.3.3 Zell-, Gewebe- und Organkulturen | 15 |
| 3.3.4 Isolierte Organperfusion | 16 |
| 3.4 Isolierte Nierenperfusion | 17 |
| 3.4.1 Entwicklung eines Modells einer isoliert perfundierten Niere | 17 |
| 3.4.2 Der Perfusionskreislauf | 19 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 3.4.3 | Einschränkungen und Probleme der isolierten Nierenperfusion | 19 |
| 3.4.3.1 | Ischämie | 19 |
| 3.4.3.2 | Bio- und Hämokompatibilität | 21 |
| 3.5 | Nierenphysiologie | 22 |
| 3.6 | Pathophysiologie des akuten Nierenversagens | 23 |
| 4 | MATERIAL UND METHODEN | 25 |
| 4.1 | Tiere | 25 |
| 4.2 | Perfusionssystem (Versuchsaufbau) | 25 |
| 4.2.1 | Blutkreislauf | 25 |
| 4.2.2 | Dialysatkreislauf | 26 |
| 4.3 | Versuchsablauf | 28 |
| 4.3.1 | Organentnahme und Blutgewinnung | 29 |
| 4.3.2 | Konservierung der Organe | 30 |
| 4.3.3 | Durchführung der Perfusion | 31 |
| 4.4 | Messverfahren | 31 |
| 4.4.1 | Probenentnahme und Datenerfassung | 31 |
| 4.4.2 | Berechnung der Parameter | 32 |
| 4.5 | Datenverarbeitung und statistische Auswertung | 32 |
| 5 | ERGEBNISSE | 33 |
| 5.1 | Nierengewichte | 33 |
| 5.2 | Hämodynamische Parameter | 34 |
| 5.2.1 | Blutfluss | 34 |
| 5.2.2 | Organwiderstand | 35 |
| 5.3 | Nierenfunktionsparameter | 36 |
| 5.3.1 | Kreatinin-Clearance | 36 |
| 5.3.2 | Filtrationsfraktion | 37 |
| 5.3.3 | Sauerstoffverbrauch | 37 |
| 5.3.4 | Tubulärer Natriumtransport | 39 |
| 5.3.5 | Resorptionsfraktion Natrium | 40 |
| 5.3.6 | Diurese | 41 |
| 5.3.7 | Osmolalität, Urin/Plasma-Relation | 42 |
| 5.3.8 | Kreatinin, Urin/Plasma-Relation | 43 |
| 5.3.9 | Proteinkonzentration, Urin/Plasma-Relation | 44 |
| 5.3.10 | Glukosekonzentration, Urin/Plasma-Relation | 45 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 6 | DISKUSSION | 46 |
| 6.1 | Methode | 46 |
| 6.2 | Ergebnisse | 47 |
| 6.2.1 | Nierengewichte | 47 |
| 6.2.2 | Renaler Blutfluss und Organwiderstand | 48 |
| 6.2.3 | Kreatinin-Clearance | 49 |
| 6.2.4 | Sauerstoffverbrauch..... | 51 |
| 6.2.5 | Resorptionsfraktion Natrium | 51 |
| 6.2.6 | Tubulärer Natriumtransport..... | 52 |
| 6.2.7 | Diurese..... | 52 |
| 6.2.8 | Kreatinin, Urin/Plasma-Relation | 53 |
| 6.2.9 | Proteinkonzentration, Urin/Plasma-Relation | 53 |
| 6.3 | Schlussfolgerung | 54 |
| 7 | ZUSAMMENFASSUNG | 55 |
| 8 | SUMMARY | 57 |
| 9 | LITERATURVERZEICHNIS | 59 |
| 10 | ANHANG | 72 |
| 10.1 | Ergebnisse hämodynamischer und funktioneller Parameter | 72 |
| 10.2 | Formeln | 76 |
| 11 | Danksagung | 77 |
| 12 | Selbständigkeitserklärung | 78 |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|------------------|--|
| ADH | Antidiuretisches Hormon |
| B2 | Baeyer-2-Konservierungslösung |
| Cl | Clearance |
| Crea | Kreatinin |
| cAMP | zyklisches Adenosinmonophosphat |
| DCD | donated after cardiac death |
| DGF | delayed graft function |
| EC | Euro-Collins-Konservierungslösung |
| ECD | expanded criteria donor |
| GFR | Glomeruläre Filtrationsrate |
| Hb | Hämoglobin |
| Hkt | Hämatokrit |
| HLA | Human leucocyte antigen |
| HTK | Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat |
| I.E. | Internationale Einheiten |
| mmHg | Millimeter Quecksilbersäule |
| mmol | Millimol |
| μmol | Mikromol |
| NG | Nierengewicht |
| pCO ₂ | Kohlenstoffdioxidpartialdruck |
| PEG | Polyethylenglykol |
| PNF | primary non-function |
| QB | Blutfluss |
| R | Organwiderstand |
| RF _{Na} | Resorptionsfraktion Natrium |
| T _{Na} | Tubulärer Natriumtransport |
| UW | University of Wisconsin-Konservierungslösung |
| VU | Volumenstrom Urin |

1 EINLEITUNG

Eine gute Organkonservierung ist sowohl für die klinische Transplantationsmedizin als auch für die Forschung am Modell der isolierten Organperfusion von großer Bedeutung. Eine entscheidende Rolle spielt hierbei die Organkonservierungslösung. Diese soll durch Zu- und Abfuhr wichtiger Stoffwechselprodukte die morphologische und funktionelle Integrität des Organs schützen.

In den Anfängen der Transplantationsmedizin gab es keine erprobten Konservierungsmöglichkeiten für zu transplantierende Organe, sodass die Ischämiezeiten sehr kurz gehalten werden mussten (EIGLER 2002). Durch die Entwicklung verschiedener Konservierungslösungen, zunächst der Euro-Collins-Lösung, war es später möglich, längere Lagerungszeiten und dadurch einen verbesserten Organaustausch über größere Entfernungen hinweg gemäß den HLA (human leucocyte antigen)-Kriterien der EUROTRANSPLANT FOUNDATION zu realisieren (DREIKORN et al. 1980).

Im Bereich der experimentellen Forschung spielt das Modell der isoliert perfundierten Organe eine zunehmende Rolle. Während initial vorwiegend Organe kleiner Labortiere zum Einsatz kamen (DE MELLO und MAACK 1976, BREZIS et al. 1984), werden mittlerweile zunehmend Organe vom Schwein verwendet (MODERSOHN et al. 1997, FEHRENBURG et al. 2004, NAGEL et al. 2005), da diese denen des Menschen morphologisch und funktionell ähnlicher sind. Am Modell der isoliert perfundierten Schweineniere werden beispielsweise Organkonservierungslösungen vergleichend hinsichtlich ihrer Konservierungsleistung untersucht (FEHRENBURG et al. 2004). Jedoch auch in anderen Gebieten der Arzneimittelforschung können isoliert perfundierte Organmodelle für pharmakologische Studien zum Einsatz kommen, wie beispielsweise das „Bovine Udder System“ von KIETZMANN (1993), welches als Untersuchungsmodell für die perkutane Resorption von Arzneimitteln dient. Vergleichbaren Zwecken dient das isoliert perfundierte Schweineohrmodell (VANROOIJ et al. 1995). Es ist naheliegend, dass mithilfe dieser Organmodelle standardisierte Ersatzmethoden für Tierversuche etabliert werden können, wodurch sich der Verbrauch an Versuchstieren drastisch senken ließe. Um auch das Töten von Tieren für die Organgewinnung vermeiden zu können, entwickelte Grosse-Siestrup (2002a) ein System, mit dem Organe zur isolierten Organperfusion aus einem konventionellen Schlachtprozess von Schweinen gewonnen werden können. Da auch bei dieser Methode Organgewinnung und Organperfusion räumlich nicht zu vereinbaren sind, ist eine möglichst optimale Konservierung der Organe, um ischämiebedingte Schädigungen zu verringern, notwendig.

Seit der Etablierung der Euro-Collins-Lösung zur Organkonservierung wurde der Weiterentwicklung von Konservierungslösungen zur Minimierung von ischämie- und reperfusionsbedingten Schäden im Transplantat viel Aufmerksamkeit gewidmet. Aufgrund offensichtlicher Defizite im Bereich der osmotisch wirksamen Substanzen wird die Euro-Collins-Lösung heutzutage kaum noch angewendet. In der klinischen Transplantationsmedizin sind die Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat (HTK)-, University of Wisconsin (UW)- und die Celsior-Lösung mit jeweils verschiedenen Vor- und Nachteilen etabliert (MUHLBACHER et al. 1999). Im experimentellen Bereich kommt außerdem die Baeyer-2-Lösung zum Einsatz (VON BAEYER et al. 1997). Zur weiteren Verbesserung der Organkonservierung wurden außerdem Studien zum Einsatz von Iloprost, eines Prostazyklinanalogons mit potenten vasodilatatorischen, thrombozytenaggregationshemmenden und zytoprotektiven Eigenschaften, durchgeführt. Sowohl an Kaninchen- (FORTH et al. 1990) als auch an Schweinenieren wurde Iloprost vor der Organentnahme als Spenderkonditionierung gegeben (LANGKOPF et al. 1986, REBMANN et al. 1987) bzw. der Konservierungslösung (Euro-Collins-Lösung) zugesetzt (REBMANN et al. 1986). In allen Studien konnte eine deutliche Reduktion der ischämiebedingten Organschäden durch den Einsatz von Iloprost nachgewiesen werden.

2 AUFGABENSTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit soll die Wirkung des Prostazyklinanalogons Iloprost als Zusatz zu einer herkömmlichen Organkonservierungslösung auf die Nierenfunktionalität nach zweistündiger kalter Ischämiezeit ermittelt werden. Hierzu wird die Wirksamkeit von drei verschiedenen Konservierungslösungen vergleichend untersucht.

Folgende Konservierungslösungen sollen eingesetzt werden:

Gruppe I: HTK- Lösung (Custodiol®)

Gruppe II: Baeyer-2- Lösung

Gruppe III: HTK- Lösung mit Iloprost (25 µg/2 Liter Custodiol®)

Es sollen mindestens 18 Nieren operativ gewonnen werden. Nach zweistündiger Konservierung mit der jeweiligen Konservierungslösung sollen die Nieren für die Dauer von 180 Minuten normotherm hämoperfundiert werden. In allen drei Gruppen werden in regelmäßigen Abständen hämodynamische Parameter und Nierenfunktionsparameter ermittelt. Dies geschieht am Modell der isoliert hämoperfundierten Schweineniere. Die Organfunktionalität nach Reperfusion dient als Beurteilungskriterium für die Güte der Organkonservierungslösungen.

3 LITERATURÜBERSICHT

3.1 Konservierung isolierter Organe

3.1.1 Konservierungsmöglichkeiten

Ziel einer Organkonservierung ist es, morphologische Strukturen, Funktionen und Energie-reserven des Organs zu erhalten. Die Erhaltung eines möglichst physiologischen pH-Wertes ist dabei von größter Bedeutung. Auf dem Gebiet der Organkonservierung, vor allem in der Transplantationsmedizin, haben sich zwei Konservierungsmethoden etabliert. Es sind dies die hypotherme Lagerung nach initialer Spülung mit einer Konservierungslösung, sowie die hypotherme Perfusion mit einer Konservierungslösung (MUHLBACHER et al. 1999).

3.1.1.1 Hypotherme Lagerung

Die weniger aufwendige und kostengünstige Methode, die hypotherme Lagerung, beinhaltet eine initiale Spülung der Niere via Nierenarterie mit einer gekühlten Konservierungslösung und eine sofort eingeleitete Oberflächenkühlung. Im Anschluss kann das Organ bis zu 24 Stunden bei ca. 4° C gelagert werden (Lagerung auf Eis). Die Qualität der Konservierung dieser Methode wird beeinflusst von der Konservierungsdauer und der verwendeten Konservierungslösung. Ein Nachteil dieser Methode besteht darin, dass Flussraten und Perfusionsdrücke, wie bei der hypothermen Perfusion durchführbar, nicht gemessen werden können und so keine Beurteilung der Organvitalität möglich ist (TOLEDO-PEREYRA 1988).

3.1.1.2 Hypotherme maschinelle Perfusion

Mit der hypothermen extrakorporalen Perfusion können längere Konservierungszeiten erreicht werden. Hierbei werden die Nieren von einem 4-7°C kühlem Perfusat durchströmt, welches für die Versorgung der Zellen und den Abtransport toxischer Stoffwechselprodukte verantwortlich ist. Die Art des Pumpsystems hat bei dieser Form der Konservierung Einfluss auf die Konservierungsqualität. In einer Studie (DEL CANIZO et al. 1998) wurde die hypotherme (4°C) Perfusion dahingehend untersucht, welchen Einfluss der Einsatz von Rollenpumpen im Gegensatz zu pulsatilen Pumpen hatte. Dokumentiert wurden Perfusionsdruck und Fluss. Mittels eines in den Kreislauf injizierten Farbstoffs konnte die Qualität der Perfusion im Organ dargestellt werden. Es stellte sich heraus, dass es von Vorteil ist, den Fluss anstelle des Perfusionsdrucks konstant zu halten, unabhängig vom Pumpsystem. Die Gewebepfusion durch pulsatile Pumpen erwies sich als einheitlicher als die durch Rollenpumpen. Bei diesen gab es ein Perfusionsdefizit im Bereich der Nierenrinde. Dies liegt darin begründet, dass bei Rollenpumpen der maximale und durchschnittliche Druck relativ ähnlich

(40 mmHg) ist. Bei der pulsatilen Perfusion werden jedoch deutlich höhere Maximaldrücke von 100-120 mmHg erreicht, was eine bessere Durchblutung aller Gefäße verursacht. Auch in einer weiteren Studie (LLEDO et al. 2002) wurde festgestellt, dass pulsatile Pumpen, verglichen mit Rollenpumpen, einen höheren renalen Fluss und eine Senkung des Organwiderstandes bewirken.

Diese Methode der pulsatilen Perfusion ist teuer und aufwendig (TOLEDO-PEREYRA 1988). Bei ischämisch vorgeschädigten Nieren kann sie jedoch eine bessere Transplantatvitalität gewährleisten (BOOSTER et al. 1993).

Aktuell gewinnt die Methode der hypothermen maschinellen Perfusion als Konservierungsmöglichkeit wieder an Bedeutung, da aufgrund des großen Organbedarfs in zunehmendem Maße auch Organe von suboptimalen Spendern verwendet werden. Die Methodik hat sich insofern vereinfacht, als dass mittlerweile ein sog. LifePort Kidney Transporter der Firma Organ Recovery Systems erhältlich ist. Hierbei handelt es sich um eine Transportbox, in der die zu transplantierende Niere hypotherm pulsatil mit der UW-Lösung perfundiert wird, während kontinuierlich Organfunktionsparameter bestimmt werden können. In einer internationalen prospektiven randomisierten Studie aus dem Bereich der klinischen Transplantationsmedizin wurde jeweils eine Niere eines verstorbenen Spenders auf herkömmliche Weise nach den Eurotransplant-Richtlinien konserviert, die andere mit dem LifePort Kidney Transporter. Der klinische Verlauf der Empfänger wurde post OP über ein Jahr verfolgt. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Maschinenperfusion das Risiko und die Dauer einer verzögerten Transplantatfunktion signifikant reduzieren kann und das Transplantatüberleben nach einem Jahr signifikant höher ist (MOERS et al. 2009). Zu ähnlichen Ergebnissen kam eine nachfolgende Studie mit gleichem Vorgehen, bei der jedoch ausschließlich DCD-Nieren (donated after cardiac death) verwendet wurden (JOCHMANS et al. 2010). Auch eine tierexperimentelle Studie konnte zeigen, dass Nieren nach hypothermer maschineller Perfusion einen geringeren konservierungsbedingten Schaden, eine bessere glomeruläre und tubuläre Funktion und eine geringere Proteinurie aufwiesen (HOSGOOD et al. 2010).

Ein noch etwas weiter entwickeltes Konservierungsmodell stellt das Organ Care System der Firma Transmedics dar. Ähnlich wie bei dem LifePort Kidney Transporter handelt es sich hierbei um eine Transportbox, wobei in diesem Fall das Organ über ein integriertes pulsatile Pumpsystem mit körperwarmem Blut des Spenders, welches kontinuierlich oxygeniert und mit Nährstoffen angereichert wird, perfundiert wird. Über einen Monitor ist die ständige Überwachung der Funktionsparameter des Organs möglich. Die Firma beschreibt erste erfolgreiche Einsätze bei Herztransplantationen (TRANSMEDICS 2009).

BAGUL et al. (2008) konnten mit einem eigenen System in einer tierexperimentellen Studie an Schweinenieren zeigen, dass eine zweistündige normotherme Perfusion mit autologem

Blut nach 16-stündiger kalter Ischämie die Konservierung der Nieren verbesserte. Die so konservierten Nieren wiesen eine vergleichbare Reperfusionshämodynamik wie Nieren nach nur 2-stündiger kalter Ischämiezeit auf.

3.1.2 Konservierungslösungen

Ziel einer erfolgreichen Organkonservierung ist es, die ischämische Toleranz eines Organs während anaerober Verhältnisse zu verlängern, sowie Zellschädigungen während der Reperfusion zu limitieren (DE BOER et al. 1999). In erster Linie geht es um die Vermeidung eines intra- und extrazellulären Ödems, einer intrazellulären Azidose und einer Schädigung des Organs durch Entstehung freier Radikale (HAUET et al. 1998). In der Transplantationsmedizin vorrangig verwendete Konservierungslösungen sind die HTK-Lösung, die UW-Lösung, die Euro-Collins-Lösung und die Celsior-Lösung. Die genannten Konservierungslösungen unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung und zeigen somit auch Unterschiede in ihrer Wirkung.

3.1.2.1 Euro-Collins-Lösung

Eine der ersten Lösungen zur Nierenkonservierung wurde von G.M. Collins entwickelt und später von Eurotransplant modifiziert. Bei dieser Euro-Collins-Lösung entspricht die Elektrolytkonzentration nahezu der des Intrazellularraumes. Sie enthält einen Phosphatpuffer, sowie Glukose als osmotisch wirksame Substanz. Selbst unter hypothermen Bedingungen wird Glukose jedoch enzymatisch gespalten und verursacht dadurch Zellschwellungen. Diese nachteilige Beeinflussung der Konservierung ist der Grund dafür, dass der Einsatz der Euro-Collins-Lösung nahezu eingestellt ist (MUHLBACHER et al. 1999). In einer Studie von HELOU und Mitarbeitern (1993) trat bei bis zu 35-50% der Patienten nach Nierentransplantation eine akute tubuläre Nekrose auf.

3.1.2.2 UW-Lösung

Belzer entwickelte eine neue Konservierungslösung, die University of Wisconsin (UW)-Lösung. Diese enthält als osmotisch wirksame Stoffe metabolisch inerte Substanzen, wie Lactobionat und Raffinose. Weiterhin enthält die Lösung Hydroxyethylstärke (HES) als kolloidosmotische Substanz. Radikalfänger wie Glutathion, Allopurinol und Adenosin wurden zugesetzt. Als Puffer wird ebenso wie in der Euro-Collins-Lösung Phosphat verwendet. Diese Lösung ermöglicht eine ischämische Toleranz von bis zu 72 Stunden bei der Konservierung von Nieren (MUHLBACHER et al. 1999).

3.1.2.3 HTK-Lösung

Das Prinzip der HTK (Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat)-Konservierungslösung, entwickelt von Bretschneider und erstmals während einer Operation am offenen Herzen zur Kardioplegie verwendet (BRETSCHEIDER 1980), basiert auf der Verwendung eines Puffer-

systems, dessen Hauptkomponente die Aminosäure Histidin bildet. Dieser sehr potente Puffer kann den typischen ischämiebedingten pH-Wertabfall im Gewebe stark verlangsamen. Die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe stabilisiert das Zellmembranpotential so, dass es nahe am Ruhepotential liegt. Dies verhindert einen Natrium- und Kalziumeinstrom in die Zelle, die Zelle wird somit nicht aktiviert. Enthaltenes Mannitol dient als Antioxidans. Es verhindert außerdem die Entstehung von zellulären Ödemen. Tryptophan wirkt membranstabilisierend, Kalium-hydrogen-2-ketoglutarat dient als Substrat für die aerobe Energiegewinnung (HRABALOVA et al. 2003). Die ursprünglich zur Konservierung von Herzen entwickelte Lösung zeichnet sich durch eine niedrige Viskosität aus, was eine hohe Flussgeschwindigkeit bei der Perfusion und damit eine schnellstmögliche Kühlung des Organs ermöglicht (MUHLBACHER et al. 1999). Im Gegensatz zu den zwei erstgenannten Lösungen weist die HTK-Lösung außerdem einen niedrigen Kaliumgehalt auf (DE BOER et al. 1999).

3.1.2.4 Celsior-Lösung

Als vierte Konservierungslösung ist noch die Celsior-Lösung zu nennen. Diese stellt eine Mischung der Funktionsprinzipien der UW-Lösung und der HTK-Lösung dar, indem sie sowohl Lactobionat und Mannitol als auch Histidin enthält. Zusätzlich verfügt sie über einen Sauerstoff-Radikalfänger. Aufgrund der Elektrolytkonzentrationen (hohes Natrium, niedriges Kalium) weist sie einen extrazellulären Charakter auf (MUHLBACHER et al. 1999).

3.1.2.5 Baeyer-2-Lösung

Die von v. Baeyer entwickelte Konservierungslösung funktioniert nach dem Prinzip einer sofortigen Beendigung energieverbrauchender bzw. sauerstoffverbrauchender Stoffwechselprozesse im tubulären System der Niere durch komplette Hemmung des Stofftransportes. Freie Sauerstoffradikale und toxische Stoffwechselprodukte werden somit gar nicht erst produziert. Realisiert wird dies zum Teil durch Blockierung der Ionenkanäle des tubulären Systems. Eine hohe Kaliumkonzentration verhindert ein Ausströmen von Kalium. Magnesium behindert den Zustrom von Kalzium über Kalziumkanäle. Sulfat hemmt den Transport von Chlorid und Bikarbonat. Polyethylenglycol (PEG, Molekulargewicht: 4000) verbessert den Transport der Konservierungslösung bis in kleine Kapillaren. Das onkotisch wirkende PEG und die osmotisch wirksame Sucrose verhindern ein Ein- und Austreten von Wasser des Intrazellulärtraumes. Nur geringe Phosphatmengen in der Konservierungslösung als Puffer-substanz verhindern die Ausfällung großer Mengen von Kalziumphosphat, welches wiederum die Kapillaren verstopfen würde (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002c, FEHRENBURG et al. 2004).

3.1.2.6 Konservierungslösungen im Vergleich

Es gibt diverse Studien, in denen vergleichende Untersuchungen dieser Lösungen durchgeführt wurden. Eine gute Organfunktion nach erfolgter Transplantation ist ein Indikator für eine gute Konservierung während der kalten Ischämiezeit. Verglichen mit der Euro-Collins-Lösung zeigen mit HTK-Lösung konservierte Nieren bessere Ergebnisse bei der initialen Organfunktion sowie höhere Überlebensraten der Nieren nach einem Jahr. Das Auftreten einer verzögert einsetzenden Organfunktion nach der Transplantation liegt bei Nieren nach Konservierung mit HTK-Lösung bei 0%, bei Nieren, die mit Euro-Collins konserviert wurden, bei 33,3 %. Eine höhere Urinproduktion sowie eine schnellere Normalisierung der Serumkreatininkonzentration können bei HTK-konservierten Nieren, im Gegensatz zu Euro-Collins-konservierten Nieren, nach der Transplantation beobachtet werden (TRUSHKOV et al. 2003). Euro-Collins-Lösung ist mit einem signifikant höheren Risiko für DGF (delayed graft function) assoziiert als die HTK- und die UW-Lösung (O'CALLAGHAN et al. 2012).

Bei der Transplantation abdominalen Organe werden am häufigsten die HTK- und die UW-Lösung verwendet. Die UW-Lösung galt seit 1987 als der Gold-Standard für die Konservierung abdominalen Organe. Aufgrund geringerer Kosten, dem geringeren Risiko einer Reperfusionshyperkaliämie, einer besseren Mikrozirkulation aufgrund geringerer Viskosität und besserer Zellkonservierung über einen größeren Temperaturbereich, hat die Verwendung der HTK-Lösung seit 2004 stark zugenommen (STEWART et al. 2009).

In einer klinischen Studie von DE BOER und Mitarbeitern (1999) zum Vergleich verschiedener Konservierungslösungen bei Nierentransplantationen wurde festgestellt, dass nach Einsatz von HTK- und UW-Lösungen gleichwertige Ergebnisse zu erzielen sind. Auch LYNCH et al. (2008) kamen in ihrer retrospektiven Untersuchung zu dem Schluss, dass sich eine Konservierung mit der HTK-Lösung nicht negativ auf das Überleben von Patienten und Transplantat auswirkt. In der Studie von STEWART et al. (2009), in der die Datenbank United Network for Organ Sharing analysiert wurde, wurde diese Aussage jedoch in Frage gestellt. Hier waren über 12 Monate nach Transplantation einer HTK-konservierten Spenderniere signifikant mehr Patienten von einem Transplantatversagen betroffen als nach Transplantation einer UW-konservierten Niere. Die Autoren empfehlen deshalb, den häufigen Einsatz der HTK-Lösung nochmals zu überdenken. In einer aktuellen Meta-Analyse der vorhandenen Literatur konnten O'Callaghan und Mitarbeiter (2012) allerdings keinen Unterschied im Auftreten von DGF nach dem Einsatz von HTK und UW finden.

In einer experimentellen Studie zum Einsatz der Celsior-Lösung erwies sich diese als gleichwertig zur UW-Lösung (BALDAN et al. 1997). Hinsichtlich des Auftretens von DGF nach Nierentransplantationen scheint es keinen Unterschied zur HTK- und zur UW-Lösung zu geben (O'CALLAGHAN et al. 2012).

Im Modell der hämoperfundierte Schweineniere wird häufig die Baeyer-2-Konservierungslösung (B2) eingesetzt. Verglichen mit anhand von HTK-Lösung konservierten Nieren, zeigen mit B2-Lösung konservierte Nieren einen geringeren Organwiderstand und eine signifikant höhere Kreatinin-Clearance. Signifikant höhere Werte der Natrium Rückresorptionsfraktion und der Filtrationsfraktion sind ebenfalls bei mit B2- Lösung konservierten Nieren festzustellen. Histologische Untersuchungen der Nieren nach Perfusionsende scheinen eine erfolgreichere Konservierung durch B2- Konservierungslösung zu bestätigen. Gewebeschäden scheinen häufiger bei mit HTK- Lösung konservierten Nieren aufzutreten. Für die experimentelle Nierenperfusion stellt die Baeyer-2- Konservierungslösung somit eine gute Wahl dar (FEHRENBURG et al. 2004).

3.2 Iloprost

Iloprost, der Wirkstoff Iloprost®, ist ein chemisch stabiles Analogon des endogenen Prostazyklins. Endogenes Prostazyklin (PGI_2) zählt zusammen mit den anderen Prostaglandinen, den Thromboxanen, Leukotrienen und den Hydroperoxy- und Hydroxyfettsäuren zu den Eicosanoiden. Eicosanoide sind körpereigene Signalstoffe, welche in die Familie der Mediatoren gehören. Sie leiten sich von mehrfach ungesättigten C_{20} -Fettsäuren ab. Prostazyklin (PGI_2) sowie Thromboxan und die anderen Prostaglandine werden über den Cyclooxygenase-Weg aus Arachidonsäure (20:4) synthetisiert (KARLSON et al. 1994). Endogenes Prostazyklin wird hauptsächlich von Gefäßendothelzellen synthetisiert. Es wurde 1975 von Sir John Vane, London/England erstmals isoliert und dessen Struktur aufgeklärt. Es handelt sich hierbei um einen sehr potenten Vasodilatator, der außerdem zytoprotektive und thrombozytenaggregationshemmende Eigenschaften aufweist. Forschern der Schering AG gelang 1978 die Synthese von Iloprost, eines Prostazyklin-Analogons. Iloprost besitzt einige strukturelle Unterschiede zum endogenen Prostazyklin, hat aber eine ähnliche Wirkungsweise. Am C16 trägt es eine Methyl-Gruppe, in der 18-, 19-Stellung weist es eine Dreifachbindung auf und der Enol-Sauerstoff ist durch eine Methen-Gruppe ersetzt (GRANT und GOA 1992).

3.2.1 Physikalische und chemische Eigenschaften

Iloprost ist chemisch stabiler als endogenes PGI_2 . Es besitzt eine deutlich längere Plasmahalbwertszeit, ist lichtunempfindlich und kann bei Raumtemperatur gelagert werden.

Eine wässrige Lösung mit Iloprost ist pH-neutral. Untersuchungen bezüglich der chemischen Stabilität gebrauchsfertiger verdünnter Lösungen, unter sterilen Bedingungen hergestellt, wurden durchgeführt. Die Iloprost- Lösung blieb bei Lagerung im Kühlschrank (4°C) 30 Tage (Konzentration $4 \mu\text{g/ml}$) bzw. 39 Tage (Konzentration $1 \mu\text{g/ml}$) chemisch stabil sowie bei 37°C über 10 Tage und bei 45°C über 8 Tage (PIBIRI et al. 1997).

3.2.2 Pharmakokinetik

Bereits 10-20 Minuten nach Beginn einer intravenösen Infusion stellt sich ein Gleichgewicht von Zufuhr und metabolischer Inaktivierung von Iloprost ein. Die Höhe des konstanten Plasmaspiegels hängt linear von der pro Zeiteinheit zugeführten Dosis ab. Bei der Infusion von 3 ng/kg/min sind Plasmaspiegel von etwa 150 pg/ml zu erwarten. Die Plasmaproteinbindung, vornehmlich an Albumin, beträgt 60%. Das Verteilungsvolumen liegt in der terminalen Phase bei 0,7 l/kg (KRAUSE und KRAIS 1986).

Iloprost wird vornehmlich über die β -Oxidation der Carboxylseitenkette metabolisiert. Unveränderter Wirkstoff wird nicht wieder ausgeschieden. Der Hauptmetabolit ist das Tetranoriloprost, das in vier Diastereoisomeren in freier und konjugierter Form im Harn gefunden wird. Tetranoriloprost ist pharmakologisch inaktiv. Die metabolische Clearance des Wirkstoffs im Plasma beträgt etwa 20 ml/kg/min. Die terminale Halbwertszeit im Plasma beträgt 0,5 Stunden, wodurch bereits zwei Stunden nach Infusionsende der Wirkstoffspiegel auf weniger als 10% der Gleichgewichtskonzentration abgesunken ist (KRAUSE und KRAIS 1986).

Die Ausscheidung der Iloprostmetabolite erfolgt zu 80% renal und zu 20% biliär. Die Elimination der Metabolite aus Plasma und mit dem Urin erfolgt jeweils in zwei Phasen, für die Halbwertszeiten von etwa 2 und 5 Stunden (Plasma) bzw. 2 und 18 Stunden (Harn) berechnet wurden. Die Pharmakokinetik von Iloprost ist weder vom Alter noch vom Geschlecht der Patienten abhängig, jedoch ist die Elimination des Wirkstoffs bei Patienten mit eingeschränkter Leber- oder Nierenfunktion vermindert. Die Gesamtkörperclearance beträgt 17-35 ml/kg/min, bei Patienten mit Leber- oder Nierenerkrankungen ist sie 2-4mal geringer (KRAUSE und KRAIS 1986).

3.2.3 Pharmakodynamik

Iloprost sowie das physiologisch vorkommende Prostazyklin binden mit hoher Affinität an Prostazyklin (IP)-Rezeptoren und mit geringer Affinität an PGE₁-Rezeptoren. Es kommt zu einer G-Protein-vermittelten Aktivierung der Adenylatzyklase und somit zum Anstieg des intrazellulären Botenstoffs cAMP (KRAUSE und KRAIS 1986). Die pharmakologischen Eigenschaften von Iloprost entsprechen weitgehend denen des natürlichen Prostazyklins. Die folgenden pharmakologischen Effekte wurden beobachtet: Hemmung der Aggregation, Adhäsion und Freisetzungsreaktion der Thrombozyten, Dilatation von Arteriolen und Venolen, Erhöhung der Kapillardichte und Verminderung der Gefäßpermeabilität in der Mikrozirkulation, Aktivierung der Fibrinolyse, Hemmung der Adhäsion und Einwanderung mononukleärer Blutzellen nach Endothelläsion sowie Verminderung der Freisetzung freier Sauerstoffradikale (KRAUSE und KRAIS 1986, KRAUSE und KRAIS 1987).

3.2.3.1 Vasodilatation

Iloprost wirkt den vasospastischen Effekten der Leukotriene, des Thromboxan A₂ und des „endothelium derived constricting factor“ (EDCF) an den glatten Muskelzellen der Arterien entgegen. Des Weiteren führt es zu einer vollständigen Antagonisierung der vasokonstriktorischen Wirkung von Endothelin-1 (ET-1) auf arterielle und venöse Gefäße, darüber hinaus gibt es Hinweise auf eine verminderte Freisetzung von ET-1 unter dem Einfluss von Iloprost. Zur Vasodilatation trägt weiterhin die Membranhyperpolarisation der Gefäßmuskelzellen infolge einer selektiven Öffnung von K⁺-Kanälen durch Iloprost bei (ARNER und HOGESTATT 1991, BATTISTELLI et al. 1995).

3.2.3.2 Hemmung von Thrombozytenaggregation und Leukozytenadhäsion

Iloprost besitzt eine 100 mal größere plättchenhemmende Wirkung als PGE₁ und PGI₂. Die Plättchenaktivierung wird bereits bei Konzentrationen gehemmt, welche unterhalb der für die Hemmung der Plättchenadhäsion notwendigen Konzentrationen liegen. Das bedeutet, das Plättchen sich zwar bei der Reparatur von geschädigtem Endothel durch Anlagerung beteiligen können, eine Thrombusbildung jedoch verhindert wird. Durch die Bindung an spezifische PGI₂-Thrombozyten-Rezeptoren unter Aktivierung der Adenylatcyclase erfolgt die Hemmung der Aktivierung der Thrombozyten. Es kommt zum cAMP-Anstieg und infolge zu einer Hemmung der Phospholipase A₂-Aktivität, zur Reduzierung des zytosolischen Kalziums und zur Verminderung der Exposition fibrinogenbindender Rezeptoren. Die Hemmung der Leukozytenaktivierung und -adhäsion unterstützt diesen endothelprotektiven Effekt (BELCH 1986, FISHER et al. 1987).

Die aggregationshemmenden Eigenschaften Iloprosts konnten bei der Nierenkonditionierung von Hausschweinen bestätigt werden. Eine Iloprostinfusion von 1,0 µg/kg/min über einen Zeitraum von 15 Minuten bewirkt eine deutliche Hemmung der Thrombozytenaggregation im Blut von Nierenspendertieren. Als aggregationsauslösende Substanz wurde ADP (Adenosindiphosphat) eingesetzt. Mit Iloprost versetztes Blut benötigte 160 % mehr ADP als Kontrollblut zur Erzeugung einer halbmaximalen Thrombozytenaggregation (REBMANN et al. 1986).

3.2.3.3 Wirkung auf den peripheren Gefäßwiderstand

Nach Behandlung mit PGE₁ zeigen 35% der Patienten ein Ansprechen im Sinne eines verminderten Gefäßwiderstandes, während dies nach Iloprost bei 70% der Patienten der Fall war. Darüber hinaus bewirkt Iloprost eine stärkere Senkung des peripheren Widerstandes als PGE₁ (KRUEGER et al. 2000).

3.2.3.4 Profibrinolytische Wirkung

Iloprost ist in der Lage, die endogene fibrinolytische Aktivität zu erhöhen. Als Ursache wird eine Verminderung von t-PA-Inhibitoren vermutet. Dies kann zu einer Reduzierung von

Thrombuswachstum und zur Verkleinerung bestehender Thromben beitragen (BELCH 1986, DIBBLE et al. 1988).

3.2.4 Bisheriger Einsatz

Für die Humanmedizin ist Iloprost in Deutschland zur Behandlung einer fortgeschrittenen Thrombangiitis obliterans (Buerger-Syndrom) als i.v. Präparat zugelassen. Weiterhin besteht eine Zulassung für eine Inhalationslösung zur Behandlung der idiopathischen pulmonalen arteriellen Hypertonie (ROTE LISTE SERVICE GMBH 2012).

Des Weiteren wurde Iloprost bei einigen tierexperimentellen Studien auf dem Gebiet der Nierentransplantationen eingesetzt. Eine erfolgreiche Nierentransplantation hängt wesentlich von der Vitalität der Spenderniere ab. Bei der Nierenentnahme ist es wichtig, die operativ bedingten Gefäßschäden sowie den ischämischen Schaden so gering wie möglich zu halten. Durch die häufig vorhandene hypovolämische Hypotension und Hyperkapnie des Spenders kommt es zu intrarenalen Gefäßspasmen, v.a. im Bereich der Aa. interlobares und Arteriolae rectae. Damit verbunden ist eine thromboxaninduzierte Thrombozytenaggregation, die ihrerseits zu weiteren Gefäßverschlüssen führt und zusätzlich die Vasokonstriktion verstärkt. Dadurch kann es zu einer nicht ausreichenden extrakorporalen Perfusion des Gewebes kommen, wodurch bei der Konservierung und nach der Transplantation destruktive und degenerative Veränderungen auftreten können (REBMANN et al. 1987). Die Arbeitsgruppe um REBMANN (1987) untersuchte im Tierexperiment an Schweinen die Wirkung von Iloprost auf den renalen Blutfluss und Widerstand. Dazu wurde jeweils die rechte Niere in situ mit Iloprost in einer Dosierung von 1 µg/kg/min über 15 Minuten perfundiert. Es zeigte sich eine Senkung des mittleren arteriellen Blutdruckes um 14,7%, während der elektromagnetisch gemessene Blutfluss durch die A. renalis dextra um 73,2% anstieg. Für den errechneten renalen Strömungswiderstand ergab sich eine Senkung um 49,7%. Es konnte somit gezeigt werden, dass sich durch Iloprost die hämodynamischen Verhältnisse einer Spenderniere in situ deutlich verbessern lassen.

In einer weiteren Studie an Schweinen wurde der Effekt von Iloprost auf die Vitalität der Spenderniere nach Transplantation nach vorangegangener warmer Ischämiezeit von 45 Minuten und hypothermer 24-stündiger Perfusion untersucht. Die Nieren, die vor Beginn der warmen Ischämiezeit und nachfolgender Entnahme nicht mit Iloprost behandelt worden waren, zeigten während der anschließenden Fallstromperfusion mit Konservierungslösung eine mangelhafte oder nicht vorhandene Entfärbung. Eine komplette Organperfusion konnte in diesen Fällen nicht erreicht werden, sodass die Nieren nicht weiter verwendet werden konnten. Im Vergleich dazu verhielten sich die mit Iloprost behandelten Nieren während der Perfusion mit Konservierungslösung normal und zeigten eine vollständige Entfärbung inner-

halb von 1-2 Minuten. Nach Transplantation der Nieren zeigten diese eine sofortige vollständige Durchblutung und produzierten eine adäquate Menge Urin (LANGKOPF et al. 1986). FORTH und Mitarbeiter (1990) untersuchten an Kaninchen den Effekt von Iloprost auf das akute Nierenversagen, ausgelöst durch 60 bzw. 120 Minuten warme Ischämiezeit. Hier lag die Überlebensrate nach prä- und postischämischer Iloprostgabe mit 91% signifikant höher als ohne Iloprostbehandlung (50%). Nach erfolgter Transplantation entwickelte sich zunächst bei allen Kaninchen ein akutes Nierenversagen (ANV). Durch den Einsatz von Iloprost konnte jedoch der Anteil des irreversiblen ANV von 83 auf 36% gesenkt werden, die Überlebenschance wurde damit von 17 auf 64% gesteigert. Es wurde geschlussfolgert, dass die Stabilisierung der Hämodynamik, die Thrombozytenaggregationshemmung und der zytoprotektive Effekt des Iloprosts Ursachen für die Steigerung der Ischämietoleranz der Nieren darstellen. Des Weiteren wurde im Schweinmodell der Einfluss von Iloprost auf das Transplantatverhalten nach unterschiedlich langer kalter Ischämiezeit (KIZ) (72 und 96 Stunden) untersucht (REBMANN et al. 1989). In der Gruppe nach 72-stündiger KIZ zeigten die mit Iloprost behandelten Nieren nach Transplantation eine gleichmäßige Durchblutung und begannen sofort mit der Urinproduktion. Der Blutfluss durch die A. renalis zeigte nach 15 Minuten den Ausgangswert vor Nephrektomie. Die Mikrozirkulation in den Rindengefäßen wurde durch Dopplersonographie bestätigt. Demgegenüber zeigten die Kontrollnieren (ohne Iloprostbehandlung) nach Freigabe des Blutstromes keine Durchblutung. In der Gruppe nach 96-stündiger KIZ war der Blutfluss in den mit Iloprost behandelten Nieren im Vergleich zum Ausgangswert um 20% reduziert. Eine Urinproduktion trat nach 1-2 Stunden auf. Auch hier wiesen die Kontrollnieren keine Durchblutung auf. Hiermit scheint mit 96 Stunden die Grenze der durch Iloprost verlängerten Konservierungszeit erreicht (REBMANN et al. 1989). Barun und Mitarbeiter (2011) konnten mit ihrer Studie an Rattenuteri zeigen, dass der Zusatz von Iloprost zur HTK-Lösung eine deutliche Verringerung der histologischen Schäden nach 24-stündiger kalter Ischämiezeit bewirkt.

3.3 Alternativmethoden zum Tierversuch

Unser heutiges medizinisches Wissen basiert auf Erkenntnissen aus Tierversuchen. Eine Verbesserung, Reduktion und der Ersatz von Tierversuchen, entsprechend des 3R-Konzepts (Refine, Reduce, Replace) nach RUSSEL und BURCH (1959) ist dennoch ein unumgänglicher und fortlaufender Entwicklungsprozess (KOLAR 2006). Finanzieller Zwang, verbesserte Technologien sowie ein verändertes ethisches Bewusstsein treiben diese Entwicklung voran (BRUNE 2004). In der medizinischen Forschung haben sich bereits verschiedene Ersatzmethoden etabliert. Dazu zählen Computersysteme, Zellkulturen, Bakterienkolonien, Gewebekulturen/ Organkulturen, bioelektronische Sensorchips sowie isoliert perfundierte

Organe und Organsysteme (AMES et al. 1975, RESCH 1988, TRITTHART 1989, VEDANI 1991, GROSSE-SIESTRUP et al. 2001).

Das heutzutage weltweit verknüpfte Computernetz ermöglicht den internationalen Zugang zu Literaturdatenbanken und führt so zur Vermeidung von Wiederholungen gleicher Experimente. In Deutschland gibt es die Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch (ZEBET), die Wissenschaftler aus Industrie, Universitäten und Behörden über Alternativmethoden informiert. Im Gegensatz zu anderen nationalen und internationalen Datenbanken stellt sie nicht nur eine Zusammenstellung von Abstracts und Literaturzitate dar, sondern die vorhandene Literatur erfährt eine Bewertung nach den Kriterien der 3R, dem Stand der Entwicklung und der experimentellen Gültigkeit (GRUNE et al. 2000).

3.3.1 Computermodelle

Eine Alternative zu Tierversuchen im pharmakologischen Screening bieten u.a. Computersimulationsprogramme. Das Computer-Aided Drug Design (CADD) stellt so eine Methode dar. Mit Hilfe grafischer und numerischer Simulation werden Pharmaka an biologische Rezeptoren nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip gebunden. Somit können schlecht wirksame oder unwirksame Arzneistoffe aus dem Evaluierungsverfahren frühzeitig ausgeschieden werden und müssen nicht weiter in Tierversuchen getestet werden. Die Computersimulation ermöglicht aber auch Pharmaka zu finden, welche optimal an einen Rezeptor binden. Bei diesen potentiellen Pharmaka ist so eine Indikation für anschließende „in-vivo“ Versuche gegeben (VEDANI 1991).

3.3.2 Bakterienkolonien

Mit Hilfe von Bakterienkolonien können mutagene Eigenschaften chemischer Substanzen ermittelt werden. Hierzu wurde der sog. Ames-Test entwickelt (AMES et al. 1975). Bakterien, die aufgrund einer Mutation nicht mehr in der Lage sind, eine bestimmte essentielle Aminosäure zu synthetisieren, werden auf einen diese Aminosäure nicht enthaltenden Nährboden aufgebracht. Auf diesem können sie sich folglich nicht vermehren. Gibt man eine zu testende chemische Substanz als potentiell Mutagen dazu, kann nach Bebrüten unter Umständen bakterielles Wachstum beobachtet werden. Es ist also anzunehmen, dass es sich hierbei um eine Rückmutation handelt, die durch Zugabe der zu untersuchenden chemischen Substanz aufgetreten ist und die Bakterien ihre Fähigkeit zur Synthese der Aminosäure zurückerlangt haben. Diese hat somit mutagenes Potential. In der Pharmaindustrie wird dieser Test routinemäßig zur Untersuchung potentieller Medikamente auf Mutagenität eingesetzt, da es sich um ein schnelles, kostengünstiges und einfach durchzuführendes Verfahren handelt. Er ist jedoch auch mit gewissen Limitationen verbunden, da man die Reaktionen von Bakterien

nicht einfach auf den menschlichen Organismus übertragen kann, bei dem die Metabolisierung eines Stoffes in der Leber eine große Rolle spielt. Des Weiteren kann ein fehlender Effekt nicht immer den Ausschluss mutagener Eigenschaften garantieren (TRITTHART 1989).

3.3.3 Zell-, Gewebe- und Organkulturen

Schon zu Beginn des letzten Jahrhunderts wurde die Zell- oder Gewebekultur als eine Methode entwickelt, die die direkte Untersuchung von Zellen unabhängig von den systemischen Einflüssen im Organismus möglich machte. Seitdem hat die wissenschaftliche Forschung in diesem Gebiet große Fortschritte gemacht, wobei v.a. intrazelluläre Aktivitäten wie z.B. die Replikation und Transkription der DNA, intrazelluläre Stofftransporte, Arzneimittelwirkungen und Zell-Zell-Wechselwirkungen Gegenstand der Untersuchungen waren (FRESHNEY 1990). Die Problematik der Toxizität von Substanzen auf Zellen hat in den letzten Jahren zunehmend an Gewicht gewonnen und es konnte gezeigt werden, dass in-vitro-Methoden geeignet sind, Tierversuche zu ersetzen. Ein gut untersuchtes Modell einer Gewebekultur ist der Hühnereitest, auch bekannt als HET (Hens Egg-Test) oder CAM (Chorionallantoismembran)-Test. Dieser dient als Ersatz für den Schleimhaut- bzw. Augenreiztest am Kaninchen (Draize-Test). Hierbei wird die zu testende Substanz auf die Chorionallantoismembran eines wenige Tage vorbebrüteten Hühnereis gegeben und die auftretenden Schäden anhand eines Scores beurteilt. Vorbehalte bestehen u.a. aufgrund der Tatsache, dass der Test im Graubereich von Tierversuchen anzusiedeln ist (LINDL 2002). Andere Autoren beschreiben die Kultivierung einzelner Zellarten von Nierenglomerula. Anhand dieser Modelle können Nebenwirkungen bestimmter Medikamente untersucht werden, wie z.B. die von Cyclosporin in einer Kultur von Mesangiumzellen (PEREZ DE LEMA et al. 1998, L'AZOU et al. 1999). Des Weiteren ist es auch möglich, Epithel- und Mesangiumzellen unter den Bedingungen einer chronischen Nierenerkrankung zu kultivieren. Anhand dieser Modelle können dann Medikamente für die jeweilige Erkrankung getestet werden (RESCH 1988).

Bei Organkulturen werden Teile oder ganze Organe getöteter Tiere verwendet und können über einen kurzen Zeitraum in-vitro am Leben erhalten werden. Hierbei werden die zellulären Wechselwirkungen des Ursprungsgewebes bewahrt, ohne die es schwierig wäre, Charakteristika des Gewebes zu reproduzieren. Andererseits zeigen Organkulturen kein intensives Wachstum, sodass sie nicht vermehrbar sind, was aufgrund des Bedarfs an immer frischem Material einen erhöhten Arbeitsaufwand und geringere Reproduzierbarkeit bedeutet (FRESHNEY 1990). Nichtsdestotrotz können sie dazu beitragen, Tierversuche zu reduzieren. Beispielhaft sind hier Vitalfeinschnitte zu nennen, mit Hilfe derer z.B. frisches Lebermaterial (auch von Humanlebern) bis zu 48 Stunden in Kultur gehalten werden kann, ohne dass die Stoffwechselaktivität der Leberzellen beeinträchtigt wird. Anhand dieser

Modelle können dann Medikamente z.B. auf toxische Eigenschaften oder metabolische Stabilität untersucht werden (MAAS und GROSS 1996, LINDL 2002).

Der Einsatz von Zell- oder Organkulturen kann den Verbrauch von Versuchstieren mindern. Zudem sind die genannten Methoden auch weniger kostenintensiv, leichter reproduzierbar und schneller durchführbar als Tierversuche. Die Möglichkeit der Verwendung von humanem Zellmaterial ist außerdem von Vorteil, da es die Übertragbarkeit der Ergebnisse erhöht. Limitation der genannten Methoden liegen u.a. in der fehlenden Beurteilungsmöglichkeit systemischer Einflüsse und der Beobachtung möglicher Langzeiteffekte (SPIELMANN 1996). Eine Verbesserung der „traditionellen“ Zell- und Gewebekultur stellt der Einsatz von bioelektronischen Sensorchips dar. Untersuchungen an Tumorzellkulturen demonstrierten, wie mit Hilfe von multiparametrischen Sensorchips der Verlauf metabolischer und morphologischer Prozesse bei Einwirkung von verschiedenen Testsubstanzen kontinuierlich analysiert werden konnte. Dabei wurden Zellen einer Kolonkarzinom-Zelllinie auf Siliziumchips gegeben, in ein Messgerät eingesetzt und kontinuierlich mit Nährmedien und Wirkstofflösungen computergesteuert perfundiert. Das Anwachsen und die Vermehrung der Zellen konnte mit der Impedanzmessung verfolgt werden. Eine Messung des Sauerstoffverbrauchs und Veränderungen des pH-Wertes gab Aufschluss über Stoffwechselforgänge. Bei diesen Versuchen konnten Wirkungen des toxischen Agens Cytochalasin B und Chloracetaldehyd (Metabolit onkologischer Chemotherapeutika) nachgewiesen und über längere Zeit verfolgt werden (OTTO et al. 2004).

3.3.4 Isolierte Organperfusion

Noch besser als Zell- oder Gewebekulturen ist die Methode der isolierten Organperfusion dazu geeignet, Tierversuche zu ersetzen, da hier ein komplexes Organ in seiner funktionellen Integrität untersucht werden kann. Eine Reihe verschiedener Modelle hat sich bereits in der Wissenschaft etabliert. Es werden vor allem Leber, Herz, Niere und Extremitäten auf verschiedene Art und Weise perfundiert. Untersuchungen am isoliert perfundierten Rinderuterus konnten beweisen, dass dieses Modell in der pharmakologischen Forschung die Anzahl von Tierversuchen reduzieren kann. Es wurden erfolgreich Untersuchungen durchgeführt, bei denen antiphlogistische Wirkungen von Medikamenten getestet wurden. Es stellte sich heraus, dass dieses Modell zur Prüfung von antiinflammatorischen Substanzen geeignet ist und darüber hinaus Aussagen bezüglich der COX- Selektivität treffen kann (BRAUN und KIETZMANN 2004). CZYMEK et al. (2011) untersuchten an der isoliert perfundierten Schweineleber die Auswirkungen einer elektrochemischen Behandlung. Sie konnten hiermit das Verhältnis zwischen applizierter elektrischer Ladung und Größe der Nekrosezone definieren. Isoliert hämoperfundierte Lebern von geschlachteten Schweinen können außerdem als Modell zur Untersuchung von hepatotoxischen Nebenwirkungen von Medikamenten die-

nen (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002b). Isoliert normotherm hämoperfundierte Haut, in Form von Schweineextremitäten, kann als Modell zur Untersuchung der dermalen Resorption von Medikamenten oder aber auch von Umweltgiften dienen. Eine Studie zur dermalen Resorption von Fentanyl konnte über 7 Stunden durchgeführt werden (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002d). Neben den beiden letztgenannten wurden auch in weiteren Studien Schlachthoforgane zur isolierten Organperfusion verwendet. Während eines modifizierten Schlachtprozesses wurden dabei Herz, Lunge, Leber und Nieren entnommen, schnellstmöglich gekühlt und konserviert. Nach der Verbringung ins Labor konnten diese Organe an den Perfusionskreislauf angeschlossen werden. Nachteile bei der Verwendung von Schlachthoforganen gegenüber der experimentellen Organentnahme sind die nicht durchführbare „in situ“ Kühlung und Konservierung, sowie eine nicht durchführbare „in situ“ Medikamententestung. Als weiteres Problem stellt sich die schlecht definierbare warme Ischämiezeit dar. Trotz dieser Defizite sind diese Organe lebensfähig genug, um bei pharmazeutischen Studien eingesetzt werden zu können (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002a). Auch bei der Ausbildung von Chirurgen zur Erlernung der minimal invasiven Operationstechnik stellt die pulsierende Organperfusion eine Möglichkeit zur Reduzierung von Tierversuchen dar. Mit Hilfe von Schlachthoforganen können laparoskopische und thorakoskopische Standardoperationen wirklichkeitsnah trainiert werden. Das jeweilig mit rot gefärbtem Leitungswasser perfundierte Organ bzw. Organsystem befindet sich dabei in einem Gehäuse. Eine mit dem Gehäusedeckel luftdicht fixierte Neoprenmatte ersetzt die Bauchdecke und ermöglicht so die Simulation des Pneumoperitoneums. Mit dieser Anordnung sind Operationen an Leber-/Gallenblasenkomplex, Herz-/Lungenpräparat, Niere und Darm realitätsnah imitierbar. Vor allem die Beherrschung von „Komplikationen“ wie Blutungen können beliebig oft simuliert und geübt werden (SZINICZ et al. 1993).

3.4 Isolierte Nierenperfusion

3.4.1 Entwicklung eines Modells einer isoliert perfundierten Niere

Nierenperfusionsen wurden in der Vergangenheit meist mit Hilfe kleiner Labortiere, v.a. Ratten durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Perfusionsen lieferten oft unzureichende Ergebnisse, da sich die Nieren kleiner Labortiere in anatomischer und funktionaler Hinsicht von denen des menschlichen Organismus unterscheiden (MAACK 1980). Isoliert perfundierte Nieren des Kaninchens dienten ebenfalls als Untersuchungsmodell um z.B. die Folgen von Ischämie und den Einfluss von Renin auf die Niere zu untersuchen (ROSENFELD et al. 1965). Aber auch isolierte Perfusionsen mit Hunde- und Affennieren wurden durchgeführt (VANHERWEGHEM et al. 1976, STORCK et al. 1996, HOECHEL et al. 2003). Meist wurden bei der Perfusion dieser Modelle zellfreie Perfusionsmedien verwendet. Hoechel und Mitar-

beiter (2003) postulierten, dass synthetische Perfusionsmedien den Vorteil böten, standardisierbar zu sein, bzw. dass sie nicht individuellen Schwankungen unterlägen, wie es beim autologen Blut der Fall ist. Zudem könnten durch Blut vermittelte Reperfusionen durch den Einsatz zellfreier synthetischer Perfusionsmedien verhindert werden. Sie kamen in ihrer Studie an isoliert perfundierten Hundenieren jedoch zu dem Ergebnis, dass die Nierenfunktionalität nach Verwendung eines synthetischen Perfusats schlechter ist als nach Verwendung von autologem Blut.

Die Funktionsparameter der mit zellfreien Medien perfundierten Nieren liegen z.T. nicht innerhalb der physiologischen Norm, des Weiteren führt ein mangelnder onkotischer Druck zu zunehmender Ödematisierung der Organe und somit zu Funktionseinbußen, was auch durch die Zugabe von Albumin nicht zu verhindern ist (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002c, GROSSE-SIESTRUP et al. 2003).

Aufgrund der oben genannten Nachteile bei der Verwendung von Organen kleiner Labortiere (Ratten, Kaninchen), richtete sich die Aufmerksamkeit in der medizinischen Forschung in den letzten Jahrzehnten zunehmend auf den Einsatz porciner Organe. Aufgrund anatomischer und physiologischer Ähnlichkeiten zum menschlichen Organismus können mit Hilfe des Schweins Versuche an Hunden und Affen ersetzt werden (SWINDLE et al. 1994). Die Arbeitsgruppe um Breimer (1996) stellte ein Modell der isoliert perfundierten Schweineiere vor, mit dessen Hilfe immunologische und physiologische Untersuchungen in der Xenotransplantationsforschung angestrebt wurden. Sie verwendeten autologes Vollblut, welches mit Hilfe von Oxygenatoren arterialisiert wurde, korrigierten jedoch das Blut nicht in Bezug auf niedermolekulare Solute (Metabolite, Elektrolyte). PETERS et al (2006) etablierten ein relativ einfaches Modell der isoliert perfundierten Schweineiere, bei dem sie Nieren von Schlachtschweinen verwendeten und diese je nach Fragestellung mit physiologischer Kochsalzlösung bzw. gerinnungsgehemmten Schweineblut perfundierten. Über einen Zeitraum von sechs Stunden konnte die morphologische Integrität der Nieren erhalten werden. HÄCKER et al. (2005, 2006) verwendeten diese Modelle für die Untersuchung minimal invasiver Tumortherapien wie z.B. die Radiofrequenzablation oder die Laser induzierte Thermochemotherapie.

Eine zusätzliche Verbesserung der Nierenperfusion konnte erstmalig durch den Einsatz sogenannter Hohlfasermodule, welche in der Dialyse Verwendung finden, ermöglicht werden. Nach dem Prinzip „künstlicher Kiemen“ werden niedermolekulare Stoffe zwischen Dialysat- und Blutkreislauf mit einem „low flux“ Polysulfon-Dialysem modul ausgetauscht. Eine Entgiftung des Perfusates, sowie eine Anreicherung des Perfusates mit energieliefernden Substanzen und Sauerstoff ist somit durch die Benutzung dieser Hohlfasermodule möglich. Oxygenatoren sorgen dabei für die Sauerstoffversorgung. Dieses Modell der isoliert hämo-

perfundierten Schweineniere kann an nahezu physiologische Verhältnisse anknüpfen und gewährleistet eine vierstündige Vitalität der Niere (VON BAEYER et al. 1997). Dieses Modell wurde in weiteren Studien eingesetzt, wobei Grosse-Siestrup und Mitarbeiter (2002c) den Gebrauch von Nieren kommerziell geschlachteter Schweine untersuchten, um so eine Reduktion von Tierversuchen zu ermöglichen. Die auf diesem Wege gewonnenen Nieren erlaubten eine Hämoperfusion unter nahezu physiologischen Bedingungen über einen Zeitraum von 2 Stunden. In einer weiteren Studie dieser Arbeitsgruppe wurde das beschriebene Perfusionsmodell unter Verwendung von Schlachthofnieren als Modell für pharmakologische Studien validiert. Anhand einer Kontrollgruppe bestehend aus Schweinenieren von Versuchstieren konnte gezeigt werden, dass bei Anwendung des Medikaments Furosemid, dessen Wirkmechanismen gut dokumentiert sind, im Modell der Schlachthofnieren die zu erwartenden Reaktionen reproduziert werden konnten (GROSSE-SIESTRUP et al. 2003).

3.4.2 Der Perfusionskreislauf

Ein gut etabliertes Perfusionsmodell stellt das oben genannte Modell nach VON BAEYER (1997) dar, welches auch der vorliegenden Arbeit, in leicht modifizierter Form, zugrunde liegt. Dieses Perfusionsmodell besteht aus einem Blut- und einem Dialysatkreislauf. Als Perfusionsmedium wird autologes, antikoaguliertes Schweineblut verwendet. Über eine Rollpumpe wird das Blut einem Low-Flux-Polysulfon-Dialysem modul zugeführt, dort arterialisiert und mit Hilfe einer weiteren Rollpumpe über einen arteriell gelegten Katheter der Niere zugeführt. Auch die Nierenvene ist katheterisiert, von hier fließt das Blut wieder in den Blutbeutel. Neben dem Gasaustausch gewährleistet das Dialysem modul weiterhin den Soluten-, Wasser- und Temperatureaustausch.

3.4.3 Einschränkungen und Probleme der isolierten Nierenperfusion

Die Limitationen der isolierten Nierenperfusion stehen einerseits in Zusammenhang mit der Entnahmetechnik der Organe, wodurch es zum Auftreten unterschiedlicher Phasen der Ischämie kommt, andererseits mit den im Perfusionskreislauf verwendeten Geräten und Biomaterialien, die dafür verantwortlich sind, möglichst physiologische Bedingungen nachzuahmen.

3.4.3.1 Ischämie

Eines der größten Probleme bei der Perfusion isolierter Organe aber auch in der Transplantationsmedizin stellt die durch die Organentnahme entstandene Ischämie dar (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002c). Ischämiebedingte Organschäden sind ein funktionelles Defizit des Modells der isolierten Organperfusion. Besonders die Niere besitzt eine hohe Ischämieempfindlichkeit und stellt so besonders hohe Anforderungen an ein Perfusionsmodell (VON BAEYER et al. 1997). Prinzipiell lassen sich zwei Phasen der Ischämie, die

warme und die kalte Ischämie, unterscheiden. Die warme Ischämie ist definiert als der Zeitraum vom Unterbinden der arteriellen Blutversorgung der Niere bis zum Beginn der Kühlung durch Perfusion mit gekühltem Konservierungsmedium. Die kalte Ischämie ist die Zeit vom Beginn der Kühlung bis zum Einbau des Organs in den Perfusionskreislauf. Durch Ischämie und Reperfusion bedingte Störungen der Mikrozirkulation entstehen durch zwei Vorgänge. Es kommt zum einen zu einer Leukozytenadhäsion an Endothelzellen und einer Leukozytenakkumulation im Gewebe, die über membranständige Rezeptoren (Adhäsionsproteine) vermittelt wird. Dabei werden proteolytische Enzyme und toxische Sauerstoffradikale freigesetzt, die zellschädigend wirken und eine Zunahme der mikrovaskulären Permeabilität mit Ödembildung und weiterer Verschlechterung der Mikrozirkulation bewirken („reflow paradox“). Zum anderen kommt es durch die Deformierung der Blutzellen und die Zunahme der mikrovaskulären Viskosität infolge der Ischämie zu einer Zunahme des kapillären Widerstandes und zum Verschluss der Kapillaren („no reflow“) (MENGER et al. 1992). Bei der Reperfusion des ischämischen Gewebes kommt es zu einer erheblichen Bildung von Sauerstoffradikalen, die eine hohe zelluläre Toxizität besitzen. Sauerstoffradikale entstehen durch die nichtenzymatische Reduktion von Sauerstoff. Sie können über Lipidperoxydation Zell- und Membranproteine denaturieren und dadurch Zellen irreversibel schädigen. Typische Reperfusionsschäden gehen mit Endothelläsionen und intrazellulärer Ödembildung einher. Freigesetzte Entzündungsmediatoren verstärken das Geschehen. Folglich kommt es zu Mikrozirkulationsstörungen, die wiederum fokale Gewebsischämien erzeugen. Somit führt nicht der Sauerstoffmangel allein, sondern vor allem Reperfusion und Reoxygenation ischämischen Gewebes zu irreversiblen Gewebeschäden (MESSMER 1994). Ziel ist es, die Phasen der Ischämie so kurz wie möglich zu halten. Im Falle der Verwendung von Schlachthofnieren stellt v.a. die warme Ischämiephase ein Problem dar, da sie aufgrund des Schlachtprozesses und der Gewährleistung von zum Verzehr tauglichem Fleisch knapp 14 Minuten beträgt und damit deutlich über der warmen Ischämiezeit unter experimentellen Bedingungen liegt (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002a). Nach einer warmen Ischämiezeit von 15 Minuten wiesen Nieren schlechtere Funktionsparameter auf als nach der Ischämiezeit unter experimentellen Bedingungen. Beeinflusst wird v.a. der tubuläre Ionentransport. Hierbei ist der Natriumtransport der hauptsächlich sauerstoffverbrauchende Prozess, sodass sich die Ischämieempfindlichkeit dieses Modells speziell an diesem Parameter dokumentiert (VON BAEYER et al. 1997). Nichtsdestotrotz wurden die unter Schlachthofbedingungen gewonnenen Nieren als tauglich für die Verwendung in isolierten Perfusionsmodellen eingeschätzt (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002a).

Aber auch die Länge der kalten Ischämiezeit ist von Bedeutung für die Funktionsfähigkeit der zu transplantierenden Niere. DITTRICH et al. (2004) verglichen Funktion und Histologie von

nicht gelagerten Nieren mit der von Nieren nach sieben- bis achtstündiger kalter Konservierung, wobei letztere signifikant schlechter abschnitten.

3.4.3.2 Bio- und Hämokompatibilität

Möglichst physiologische Bedingungen während der Perfusion zu schaffen und konstant zu halten, stellt eine weitere Herausforderung dar. Dazu zählen die Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen, aber auch die Konstanthaltung der Temperatur und ein möglichst steriles Arbeiten (ISSELHARD 1986, VON BAEYER et al. 1993). Des Weiteren muss auf eine möglichst hohe Biokompatibilität geachtet werden. Hierbei handelt es sich um die Wechselwirkungen zwischen Organismus und Fremdmaterial. Im Falle von Wechselwirkungen zwischen Blut und Fremdmaterial spricht man von der sog. Hämokompatibilität (BJORNSEN 1978). In Abhängigkeit von der Hämokompatibilität der verwendeten Materialien kann es zum Auftreten folgender Probleme kommen:

3.4.3.2.1 Blutgerinnung und Komplementaktivierung

Während der Perfusion steht das Blut mit Fremdmaterial in Kontakt, was zu einer Blutschädigung und so zu einer verstärkten Gewebsschädigung führen kann. Der Blutkontakt mit der Dialysemembran führt zu einer Aktivierung des alternativen Komplementweges. Eine hierdurch hervorgerufene Entzündungsreaktion kann letztendlich zu einer Vasokonstriktion führen, die wiederum eine mangelnde Sauerstoffversorgung im Gewebe nach sich zieht (VANHOLDER 1997). Durch Adhäsion von Gerinnungsproteinen an Fremdoberflächen und deren Konformationsänderung kommt es zur Aktivierung der Gerinnungskaskade v.a. über den intrinsischen Weg, was über den Zustand einer Hyperkoagulabilität schließlich zu einer Verbrauchskoagulopathie führt (ITO et al. 1992). Um der Blutgerinnung entgegenzuwirken werden bei der Vollblutperfusion Antikoagulantien eingesetzt. In der Regel wird niedermolekulares Heparin verwendet. Mikroblutungen aus unvermeidbaren Verletzungen, die bei der Organentnahme entstehen, können Ursache für eine zunehmende Widerstandsminderung im Blutkreislauf sein von (VON BAEYER et al. 1997).

3.4.3.2.2 Hämolyse

Die bei der Perfusion verwendeten Dialysatoren können verschiedene Probleme hervorrufen. In den Kapillaren des Dialysemoduls können Scherkräfte entstehen, die eine Funktionsbeeinträchtigung oder Zerstörung der Erythrozyten bewirken, was eine Hämolyse zur Folge hat (RINGOIR und VANHOLDER 1986). Des Weiteren wird die Hämolyse durch den Einsatz von kontinuierlich pumpenden Rollenpumpen gefördert. Hier wird die Blutförderung durch einen Verschluss und nachfolgendes Auswalken des Blutschlauches realisiert, wobei v.a. bei unvollständigem Verschluss Turbulenzen im Blutstrom und dadurch eine Hämolyse auftreten

kann (PHILIP et al. 1993). Der Einsatz pulsatiler Pumpen ist mit einer geringeren Hämolyserate verbunden (WALDENBERGER et al. 1997). Im Falle einer Hämolyse kann das Perfusat unter Umständen nicht mehr ausreichend mit Sauerstoff gesättigt werden, sodass es zu einer oxidativen Unterversorgung des Organs kommt (BUCHHOLZ 1990).

3.4.3.2.3 Leaching

Substanzen, die bei der Herstellung und Sterilisation von Dialysemodulfiltern verwendet werden, können sich unter Umständen während der Perfusion lösen und ins Blut abgegeben werden. Je nach Substanz sind dadurch Ablagerungen in Organen oder toxische Reaktionen möglich. Zu einem solchen Ablösen von Stoffen kommt es jedoch in der Regel erst nach langen Perfusionszeiten (deutlich >2 Stunden) (RINGOIR und VANHOLDER 1986).

Die beschriebenen Schwierigkeiten zeigen, dass die Perfusion isolierter Organe als Tierversuchersatzmethode einschränkende Mängel aufweist und erklärt die begrenzt mögliche Dauer einer Perfusion. Es gibt organspezifische Unterschiede bei der Erhaltung der Vitalität während der Perfusion. So können Schweinenieren bis zu 4 Stunden und Schweinelebern ca. 3,5 Stunden erfolgreich perfundiert werden (VON BAEYER et al. 1997, GROSSE-SIESTRUP et al. 2001).

3.5 Nierenphysiologie

Die Niere ist neben der Leber das wichtigste Stoffwechselorgan. Ihre Funktion erstreckt sich von der Ausscheidung von Stoffwechselendprodukten über die Regulation des Wasser-, Säure-Basen- und Elektrolythaushalts bis zur Produktion verschiedener Hormone.

Die funktionelle Einheit der Nieren ist das Nephron. Hier werden im Glomerulum alle Plasmabestandteile ultrafiltriert, es entsteht der Primärharn. Die Bildung ist vom effektiven Filtrationsdruck abhängig, welcher sich aus der Differenz aus Blutdruck und kolloid-osmotischem Druck einerseits und dem Druck der Bowmanschen Kapsel andererseits ergibt. Im proximalen Tubulus kommt es zur aktiven ATP-abhängigen Reabsorption von Natrium, Glukose und Aminosäuren. Dies führt zur Bildung eines osmotischen Gradienten zwischen Tubuluslumen und peritubulärer Flüssigkeit, so dass Wasser, Harnstoff und Chlorid in großem Umfang passiv resorbiert werden. Im dünnen absteigenden Schenkel der Henleschen Schleife wird v.a. Wasser infolge des hohen osmotischen Drucks in der peritubulären Flüssigkeit reabsorbiert. Im dicken aufsteigenden Schenkel der Henleschen Schleife ist eine hohe Aktivität von Transport-ATPasen vorhanden, und Natrium gelangt aus den Zellen in die peritubuläre Gewebeflüssigkeit. Im distalen Tubulus kommt es dann zu

weiterer Reabsorption bzw. Sekretion von Ionen (KOLB 1989, HIERHOLZER und FROMM 1997).

Aufgrund ihrer Funktion als Ausscheidungs- und Regulationsorgan werden die Nieren intensiv durchblutet. Der effektive renale Blutfluss liegt beim Schwein bei ca. 500 ml/min/m² KOF, somit fließen innerhalb von 24 Stunden ca. 1000 Liter Blut durch die Nieren. Der Verbrauch an Sauerstoff und ATP ist entsprechend hoch (KOLB 1989).

Beim Schwein wird das endogene Kreatinin durch glomeruläre Filtration ausgeschieden, ohne dass es im weiteren Verlauf zu nennenswerter tubulärer Resorption oder Sekretion kommt. Die Kreatinin-Clearance kann daher als Maß für die glomeruläre Filtrationsrate herangezogen werden (KOLB 1989).

3.6 Pathophysiologie des akuten Nierenversagens

Unter einem akuten Nierenversagen versteht man den plötzlichen, potentiell reversiblen Ausfall der exkretorischen Nierenfunktion. Es ist im wesentlichen durch eine akute Tubulonekrose gekennzeichnet, deren Pathogenese sich aus vaskulären, tubulären und zellulären Störungen zusammensetzt (MYERS et al. 1980, BREZIS et al. 1991, NEUMAYER 1997). Das akute Nierenversagen unterteilt sich in drei Phasen: Die Initialphase, die Erhaltungsphase und die Heilungsphase (BOCK 1998). Während der Initialphase ist die Niere dem schädigenden Insult ausgesetzt. Es kommt zur Schädigung der Tubuluszellen und aufgrund des tubuloglomerulären Feedback zur Absenkung der glomerulären Filtrationsrate (GFR). Es kommt zu einer renalen Minderperfusion, deren Mechanismen neben dem sympathikoadrenergen System auch die vasokonstriktive Wirkung des Renin-Angiotensin-Systems beinhalten (NEUMAYER 1997). Weiterhin kommt es zu einer Druckerhöhung im proximalen Tubulussystem durch Obstruktion mit Detritus, abgeschilferten Mikrovilli und Proteinzyllindern, die bei einer gleichzeitigen Erhöhung der Membranpermeabilität zu einem passiven Rückfluss von Filtrat aus dem Tubulussystem ins Interstitium führt („back leak“). Aufgrund der Ischämie kommt es in den Tubuluszellen zum Abfall des ATP und somit zur Verminderung der Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase und der Kalzium-ATPase. Daraufhin kommt es zur Erhöhung der intrazellulären Natriumkonzentration. Das Natrium bewirkt über die Erhöhung der intrazellulären Osmolarität einen Wassereinstrom in die Zelle und somit ein Zellödem. Zugleich ist die Kalziumpermeabilität der Zellmembran erhöht. Kalzium spielt bei vielen Transportmechanismen als „second messenger“ eine wichtige Rolle. Durch den massiven Kalziumeinstrom wird die Aktivität dieser Transporter vermindert, was zur weiteren Desintegration der Membranstrukturen führt. Während der Reperfusion werden freie Radikale gebildet und freigesetzt. Diese führen zur Oxidation der zellulären Phospholipidmembran und zur weiteren Membranzerstörung (NEUMAYER 1997).

Die Erhaltungsphase kann Tage bis Wochen umfassen, in deren Verlauf es aufgrund einer verminderten Nierendurchblutung und GFR, und einer gestörten Tubulusfunktion zur klinischen Ausprägung der Urämiesymptome kommt. Wird die Heilungsphase erreicht, findet eine Wiederherstellung der Nierenfunktion durch Reepithelisierung, Zellteilung und Entfernung von Obstruktionen statt (COWGILL und FRANCEY 2005).

4 MATERIAL UND METHODEN

4.1 Tiere

In der Studie werden 18 Nieren von 18 weiblichen Schweinen der deutschen Landrasse verwendet (Studie genehmigt durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales, Berlin; Projektnummer: O 0140/03). Das Gewicht der Tiere liegt zwischen 24-40 kg. Die Tiere werden in kleinen Gruppen in Boxen auf Stroh gehalten. Die Lufttemperatur beträgt 18 -21°C. Die Fütterung erfolgt ad libitum mit dem Standardfutter „Schweinemast Universal G“¹. Mittels Selbsttränke besteht jederzeit die Möglichkeit zur Wasseraufnahme. Durch cage enrichment (Spielmaterial in der Box) erhalten die Schweine Beschäftigung und können ihrem natürlichen Spieltrieb nachgehen. Die Tiere sind klinisch gesund. Vor der Organentnahme werden die Nierenwerte (Harnstoff, Kreatinin) und die Elektrolyte (Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat) überprüft.

4.2 Perfusionssystem (Versuchsaufbau)

Das Perfusionssystem setzt sich aus zwei funktionell verschiedenen Kreisläufen zusammen. Zum einen aus dem Blutkreislauf, welcher direkt mit der Niere in Kontakt steht, und zum anderen aus dem parallelgeschalteten Dialysatkreislauf. Diese bilden als Einheit die Perfusionsapparatur (Abbildung 1 und Abbildung 2). Beide Kreisläufe sind im Dialysemodul miteinander verbunden, welches einen Gas- und Solutenaustausch ermöglicht.

4.2.1 Blutkreislauf

Der Blutkreislauf besteht aus einem mit 0,5 Litern Blut des Organspenders und 10 ml 20%igem Humanalbumin² (zur Stabilisierung des kolloidosmotischen Drucks) gefüllten Plastikgefäß versetzt mit 0,6 g des Antibiotikums Amoxicillin/Clavulansäure³ und 10000 IE des Blutgerinnungshemmers Heparin⁴, zwei pulsatilen Pumpen⁵, die durch einen Kompressor⁶ angetrieben werden, einer Luftfalle⁷, zwei Blutentnahmestellen, zwei Druckaufnehmern mit angeschlossenen Druckmesser⁸, einer Temperatursonde⁹, einem nicht in-

¹ Schweinemast Universal G, thükra GmbH, Gotha

² Humanalbumin Kabi 20%®, Octapharm GmbH, Langenfeld

³ Augmentan®, GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG, München

⁴ Liquemin® N 25000, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen

⁵ Pulsatile Kunstherzpumpen „Berlin Heart“: P10P-001 (10 ml) und MXA-6 (30 ml), Berlin

⁶ Elektropneumatisches Antriebssystem für Herzunterstützungspumpen „HD_{seven}“, Dr. Heimes Medizin technik GmbH, Aachen

⁷ Luftfalle, Firma Braun, Melsungen

⁸ Drucküberwachungssystem, Hewlett Packard, Böblingen

⁹ Temperatursensor, Firma Stöckert, München

vasiven Flussmesser¹⁰ mit angeschlossenem Flussmessgerät¹¹, den Verbindungsschläuchen mit Konnektoren und einem Dialysator¹². Das Blut gelangt aus dem Blutreservoir in die „venöse“ pulsatile Pumpe. Diese befördert das Blut zum Dialysator. Die semipermeable Membran der Kapillarwände des Dialysators ermöglicht einen Austausch kleinmolekularer Substanzen entlang des Konzentrationsgradienten über die Mechanismen der Diffusion und Konvektion. Diese mit Blut gefüllten Kapillaren werden im Gegenstrom von Dialysatflüssigkeit umspült. Dabei finden Oxygenierung und Decarboxylierung des Blutes sowie Glukoseanreicherung und Elektrolytaustausch durch die Polysulfonmembran statt. Nach Verlassen des Moduls hat das Blut eine Sauerstoffsättigung von 99-100 %. Es gelangt via „arterieller“ pulsatile Pumpe in die Luftfalle. Der nicht zur Organperfusion benötigte Teil des Blutes fließt über einen Bypass zurück ins Reservoir. Noch vorhandene Luftbläschen werden in der Luftfalle aus dem Kreislauf entfernt. Zwischen Luftfalle und Nierenarterie befinden sich der arterielle Druckmesser, die Blutabnahmestelle, eine Temperatursonde und die Sonde des Paratrends¹³, für die kontinuierliche Messung des pH-Wertes sowie des arteriellen pO₂ und pCO₂. Ein Flussmessgerät gibt Auskunft über den arteriellen Blutfluss. Nachfolgend gelangt das Blut über die A. renalis in die Niere. Diese selbst liegt geschützt in einer Plastiktüte in einem Wasserbad, welches mittels eines Einhängethermostats¹⁴ konstant bei 38±0,5° C gehalten wird. Über die V. renalis verlässt das Blut die Niere und gelangt zurück ins Blutreservoir. Die venöse Druckmessung und die Abnahmestelle der venösen Blutproben erfolgt zwischen Nierenvene und Blutreservoir.

4.2.2 Dialysatkreislauf

Der Dialysatkreislauf besteht aus einem mit 6 Litern Dialysat (Tabelle 1) gefüllten Glaszylinder, der durch einen Gummistopfen luftdicht verschlossen ist, einer Rollenpumpe¹⁵, einem Oxygenator¹⁶ und einem Schlauchsystem mit Dialysatabnahmestelle. Mittels Rollenpumpe wird die Dialysatflüssigkeit dem Oxygenator zugeführt. Dieser ist über einen Schlauch mit der externen Sauerstoffversorgung verbunden. Das Dialysat wird hier mit Sauerstoff angereichert. Der Oxygenator steht außerdem mit dem Wärmeaustauscher¹⁷ in Kontakt und sorgt für eine Erwärmung des Dialysats auf 38,0°C. Eine Wasserpumpe¹⁴ befördert temperiertes Wasser zum Oxygenator/Wärmeaustauscher, was eine Erwärmung des

¹⁰ Blutflussmesser „T206 small animal blood flow meter“, Transonic Systems Inc., New York, USA

¹¹ Flussmesser T206, Transonic Systems Inc.

¹² Polysulfon-Low-Flux-Dialysator Typ F7 HPS, Fresenius Medical Care, Bad Homburg

¹³ Paratrend®, TrendCare TCM 7000, Diagnostics Medical Care, Roseville, USA

¹⁴ Einhängethermostat MD JULABO Labortechnik GmbH, Seelbach

¹⁵ Einzelkopf- Rollenpumpe, Firma Stöckert, München

¹⁶ „Lilliput 1“ D 901, Firma dideco

¹⁷ Wärmeaustauscher, Firma Stöckert, München

Dialysats im Gegenstromprinzip bewirkt. Das mit Sauerstoff angereicherte Dialysat wird zum Dialysemodul gepumpt und umspült im Gegenstrom die mit Blut gefüllten Kapillaren. Sauerstoff und Wärme werden auf das Blut übertragen. Nach dem Solutenaustausch fließt das Dialysat in den Glaszylinder zurück.

Das Dialysat wird unmittelbar vor Versuchsbeginn frisch angesetzt: Die Zusammensetzung des Dialysats (Menge der Inhaltsstoffe pro Liter Aqua destillata) ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Zusammensetzung des Dialysats (nach von Baeyer)

| Substanz | Molekulargewicht [g] | [mmol/l] | [g/l] |
|--------------------------------------|----------------------|----------|-------|
| NaCl | 58,44 | 110,0 | 6,43 |
| KCl | 74,56 | 4,0 | 0,3 |
| CaCl ₂ H ₂ O | 147,02 | 1,5 | 0,22 |
| MgCl ₂ x6H ₂ O | 203,31 | 1,0 | 0,2 |
| NaHCO ₃ | 84,01 | 20,0 | 1,68 |
| NaH ₂ PO ₄ | 137,99 | 0,5 | 0,07 |
| D-Glukose | 180,16 | 8,0 | 1,44 |
| Harnstoff | 60,06 | 5,0 | 0,3 |
| Kreatinin | 113,12 | 0,5 | 0,06 |

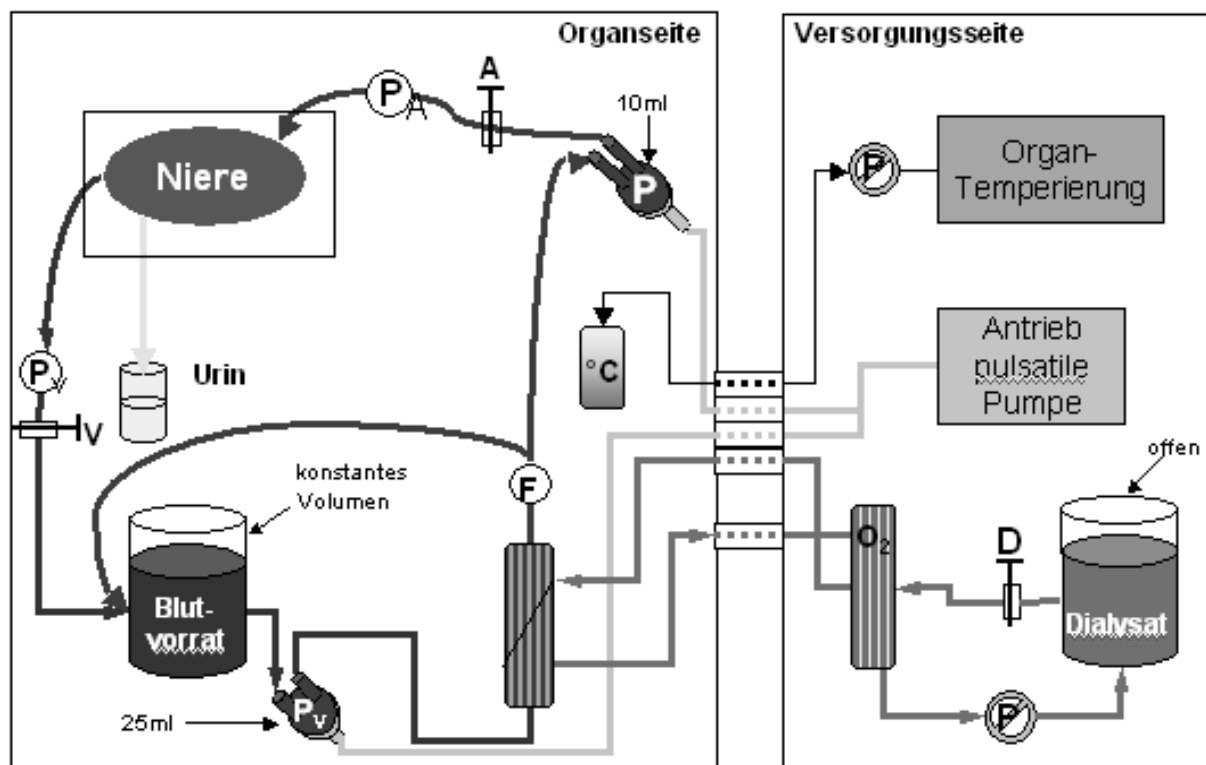


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Perfusionskreislaufs

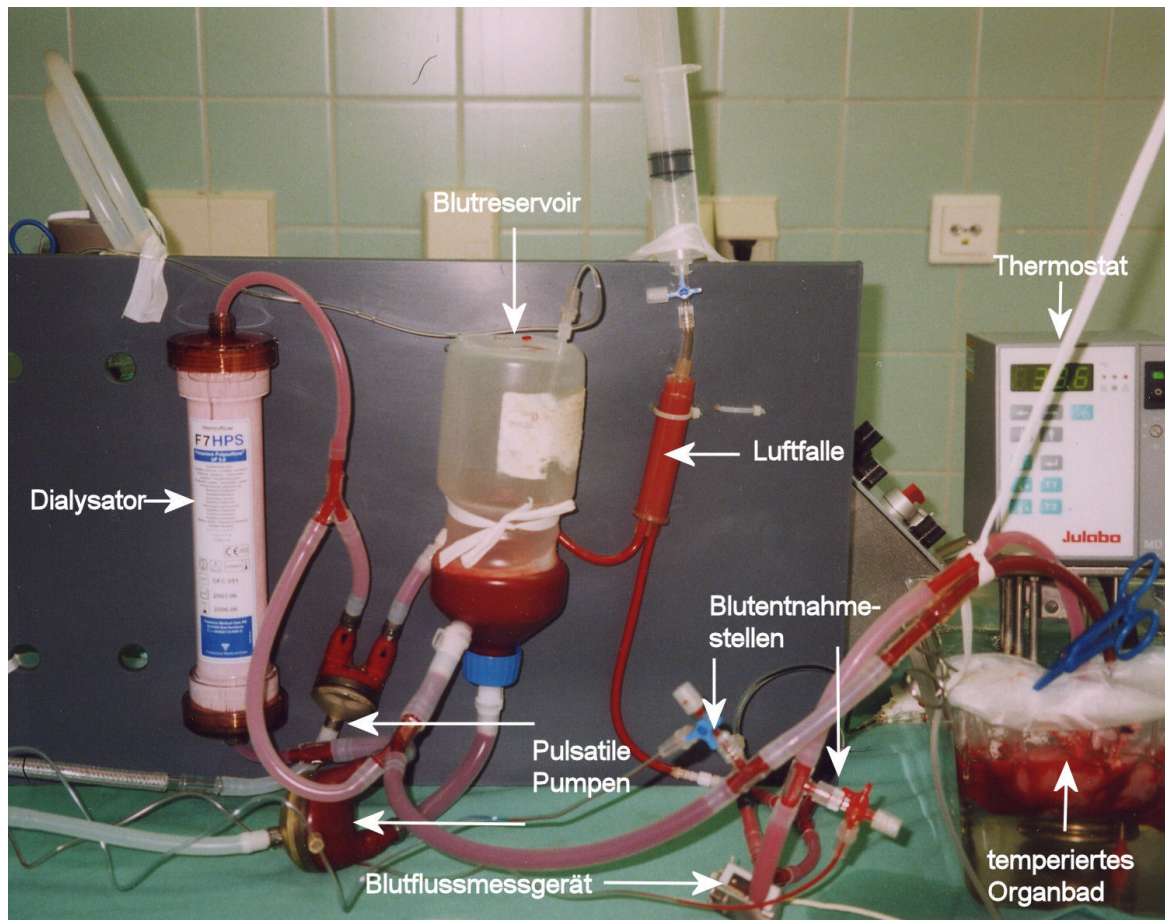


Abbildung 2: Perfusionsapparatur mit pulsatilen Pumpen, Dialysator und Organbad

4.3 Versuchsablauf

Die Organperfusion wird in drei Gruppen mit jeweils 6 Nieren über 180 Minuten durchgeführt. Die Gruppen unterscheiden sich in der verwendeten Konservierungslösung (Tabelle 2).

Gruppe I: HTK-Lösung (Custodiol®)¹⁸

Gruppe II: Baeyer-2-Lösung

Gruppe III: HTK-Lösung mit Iloprost¹⁹ (25 µg/2 Liter Custodiol®)

Abbildung 3 gibt einen Überblick über den zeitlichen Verlauf des Versuchs.

¹⁸ HTK-Lösung/Custodiol®, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach-Hähnlein

¹⁹ Iloprost/Ilovedin®, Schering Deutschland GmbH, Berlin

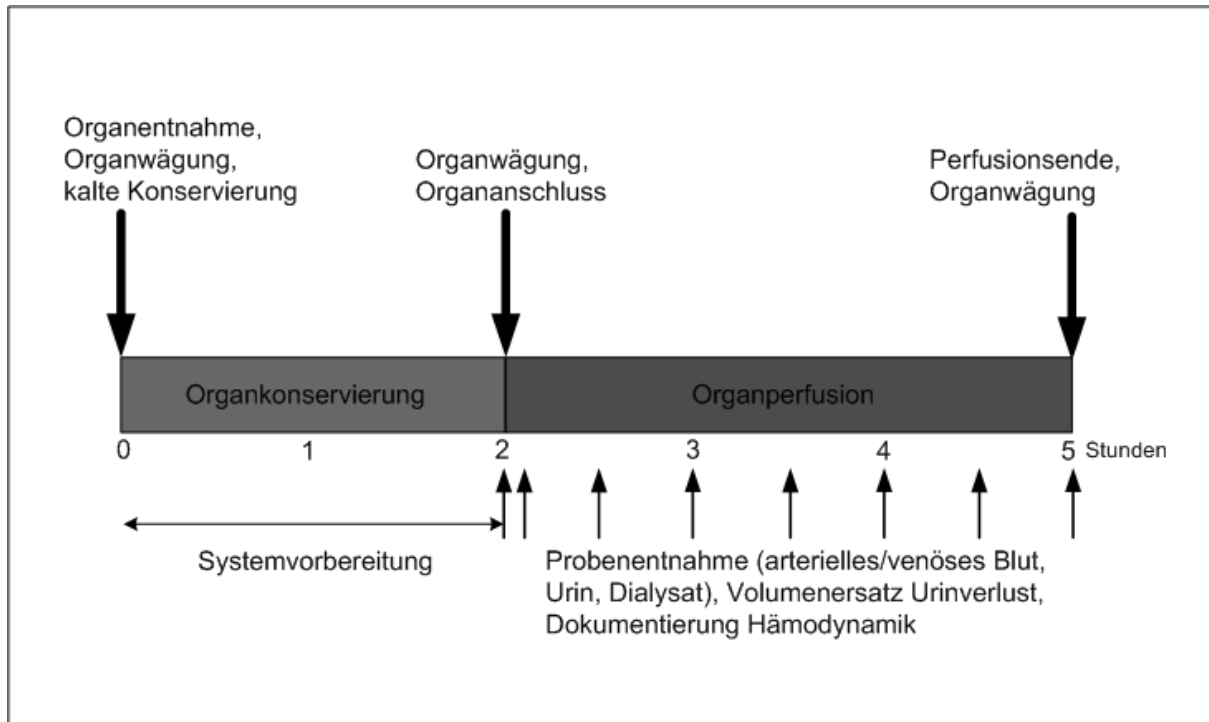


Abbildung 3: Versuchsablauf (schematische Darstellung)

4.3.1 Organentnahme und Blutgewinnung

Die Entnahme der Nieren und die Blutgewinnung erfolgt operativ unter sterilen Bedingungen. Die Schweine werden mit Etomidat²⁰ (0,25-0,5 mg/kg i.v.) und Thiopental²¹ (5-10 mg/kg i.v.) anästhesiert. Als Muskelrelaxans wird Pancuroniumbromid²² eingesetzt. Zur Analgesie wird Ketamin²³ (10mg/kg i.m) verwendet. Nach der Intubation erfolgt die Narkoseerhaltung mittels Isofluran²⁴-Sauerstoff- Lachgas-Gemisch. Das Tier wird während der Operation maschinell beatmet. Nach Applikation von 10.000 I.E. Heparin wird die V. jugularis nach Präparation mit einer „Heidelberger Verlängerung“²⁵ kanüliert. Während der Operation befindet sich das Tier in Rückenlage, es wird eine mediane Laparotomie entlang der Linea alba durchgeführt. Nach Vorlagerung des Darmkonvoluts werden Aorta abdominalis sowie Vena cava caudalis freipräpariert. Die Aorta wird vor der Beckenaufzweigung kanüliert, um die Bauchorgane mit 2 Liter, auf 4°C vorgekühlter Konservierungslösung zu spülen. Im Anschluss werden die Bauchorgane mit 4°C kalter 0,9%-iger NaCl-Lösung umspült, um eine sofortige Oberflächenkühlung zu bewirken. Nun erfolgt die Entnahme der Nieren durch Präparation und anschließender Durchtrennung von A. und V. renalis und des Urethers, sowie das Lösen aus

²⁰ Etomidat®-Lipuro, B.Braun, Melsungen

²¹ Trapanal®, ALTANA Pharma Deutschland GmbH, Konstanz

²² Pancuronium/-duplex Deltaselect® Injektionslösung, Deltaselect, Dreieich

²³ Ursotamin®, Serumwerk Bernburg

²⁴ Isofluran-Baxter® Inhalationsflüssigkeit, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleissheim

²⁵ Übertragungsleitung®, 75 cm und 3 mm Innendurchmesser, Fa.CODAN, Lensahn

der Kapsel. Über die kanülierte V. jugularis wird das Tier entblutet. Für die Perfusion wird ca. 1 Liter Eigenblut verwendet, welches in einem Blutbeutel²⁶ aufgefangen wird.

4.3.2 Konservierung der Organe

Nach Gewichtsbestimmung der Nieren mittels Digitalwaage²⁷ werden diese unmittelbar in eine Schale mit gekühlter Konservierungslösung (Tabelle 2) überführt, welche zusätzlich auf Eis gebettet wird, um eine schnelle Kühlung zu gewährleisten. Die Nierenarterie und Nierenvene werden mit einem Konnektor- Schlauchsystem²⁸ kanüliert. Der Harnleiter wird mit einem gekürzten Absaugkatheter²⁹ versehen. Alle Kanülierungen werden durch eine Ligation³⁰ fixiert. Um noch vorhandene Blutreste zu entfernen, werden die Nieren via A. renalis mit ca. 150 ml der jeweiligen Konservierungslösung manuell durchspült, bis sie von homogen blasser Farbe sind. Bis zum Beginn der Perfusion werden die Nieren 2 Stunden im Kühlschrank bei 4° C aufbewahrt. Alle beschriebenen Vorgänge werden unter sterilen Bedingungen durchgeführt, um eine Kontamination der Nieren zu vermeiden.

Tabelle 2: Zusammensetzung der Konservierungslösungen (FEHRENBURG et al. 2004)

| Inhaltsstoffe | Einheit | Eigenschaft | B2-Lösung | HTK-Lösung |
|------------------------------|-----------|-------------|-----------|------------|
| Na ⁺ | mmol/l | Kation | 22 | 15 |
| K ⁺ | mmol/l | Kation | 150 | 9 |
| Mg ⁺⁺ | mmol/l | Kation | 10 | 4 |
| Cl ⁻ | mmol/l | Anion | 10 | 50 |
| SO ₄ ⁻ | mmol/l | Puffer | 85 | - |
| PO ₄ ⁻ | mmol/l | Puffer | 6 | - |
| Histidin | mmol/l | Puffer | - | 198 |
| Mannitol | mmol/l | Kolloid | - | 30 |
| Saccharose | mmol/l | Zucker | 40 | - |
| PEG | mmol/l | Kolloid | 25 | - |
| Osmolarität | mosmol/kg | | 323 | 310 |

²⁶ Biopack-Compolex, Biotrans® GmbH, Dreieich

²⁷ Digitalwaage, Firma Sartorius AG, Göttingen

²⁸ Silikonschlauch, Firma Loewe, Berlin, Konnektor, Firma Jostar Medizintechnik, Hirrlingen

²⁹ RüscheLit® Normabsaugkatheter, 2mm Durchmesser, Willy Rüsche GmbH, Kernen

³⁰ Vicryl®, 1 metric, Ethicon, Norderstedt

4.3.3 Durchführung der Perfusion

Vor Anschluss des Organs an die Perfusionsapparatur wird das System zunächst mit 0,5 l Hämofiltrationslösung, versetzt mit 10.000 I.E. Heparin, gespült. Die Hämofiltrationslösung wird unmittelbar vor Anwendung aus der Basislösung zur Bicarbonat-Hämofiltration SH-BIC 35³¹ und der Elektrolytlösung zur Bicarbonat-Hämofiltration SH-EL 02³² nach Anwendungsvorschrift gemischt. Die initiale Spülung dient der Entfernung von Luft aus dem Kreislauf. Ferner werden Einstellungen der Perfusionsgeräte, wie Temperatur, Drücke und Sauerstoffzufuhr, vorgenommen. Sind die Vorbereitungen erfolgt, wird die Spüllösung durch Blut ersetzt. Eine Restmenge von ca. 300 ml der Hämofiltrationslösung verbleibt im arteriellen Schenkel. Nach erfolgter Vorbereitung des Systems wird die Niere gewogen, äußerlich mit 0,9%iger NaCl³³ gespült, in eine Plastiktüte verbracht und mit dem Kreislauf verbunden. Zunächst erfolgt nur der Anschluss des arteriellen Schenkels. Die Niere wird mit der noch im System befindlichen Hämofiltrationslösung durchspült, um noch vorhandenes Konservierungsmittel auszuspülen. Weist das austretende venöse Blut eine dunkelrote Farbe auf, kann davon ausgegangen werden, dass es nicht mehr mit Hämofiltrationslösung verdünnt ist. Daraufhin erfolgt der Anschluss des venösen Schenkels an die Niere. Die Niere, geschützt durch die Plastiktüte, wird in das auf 38,5°C temperierte Wasserbecken verbracht. Der Absaugkatheter, welcher als Verlängerung des Harnleiters fungiert, leitet den produzierten Urin in einen ca. 30 cm unterhalb der Niere befindlichen Messbecher. Die durch Urinproduktion verlorene Menge an Flüssigkeit wird durch Zufuhr physiologischer Elektrolytlösung³⁴ ausgeglichen. Die Drücke werden am Kompressor korrigiert, bis ein Mitteldruck von 100±10 mmHg erreicht wird.

4.4 Messverfahren

4.4.1 Probenentnahme und Datenerfassung

Vor Organentnahme wird eine venöse Blutprobe zur Kontrolle von Harnstoff, Kreatinin und der Elektrolyte Natrium, Kalium, Kalzium und Phosphat entnommen. Vor Perfusionsbeginn, 5 Minuten nach Organanschluss und anschließend alle 30 Minuten erfolgen Abnahmen von arteriellem und venösem Blut, Dialysat und Urin inkl. Mengenerfassung.

Unmittelbar nach Entnahme der Proben werden im arteriellen und venösen Blut, im Dialysat sowie im Urin die Blutgase und die Natriumkonzentration analysiert. Im arteriellen Blut wird außerdem der Hb-Wert zur Berechnung des Sauerstoffverbrauchs und der kolloidosmotische

³¹ Basislösung zur Bicarbonat-Hämofiltration SH-BIC 35, Firma B. Braun, Melsungen

³² Elektrolytlösung zur Bicarbonat-Hämofiltration SH-EL 02, Firma B. Braun, Melsungen

³³ NaCl-Lösung, Firma B. Braun, Melsungen

³⁴ Elektrolytinfusionslösung 153, Firma Berlin Chemie, Berlin

Druck zur Stabilitätskontrolle des Perfusats bestimmt. Im venösen Blut werden die blutchemischen Parameter Kreatinin, Glukose, Natrium, Totalprotein und die Osmolalität für die Beurteilung der Nierenfunktion gemessen. Die blutchemischen Parameter und die Osmolalität werden im Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathochemie des Universitätsklinikums Charité (Campus Virchow-Klinikum, Leiter: Prof. Dr. E. Köttgen) im Routine-Analyseprogramm ermittelt. Die Blutgase werden mit dem ABL505³⁵ gemessen. Die Bestimmung des Hb-Werts erfolgt mit dem OSM3³⁶, die des kolloidosmotischen Drucks mit dem Onkometer BMT 921³⁷.

Protokolliert werden gleichzeitig Flussraten von Blut und Dialysat sowie Drücke (systolisch und diastolisch) und Temperatur. Eine Gewichtsbestimmung der Nieren erfolgt nach Organentnahme, nach Konservierung sowie am Perfusionsende.

4.4.2 Berechnung der Parameter

Folgende funktionelle Parameter werden mit Standardformeln (siehe Anhang) berechnet: Organwiderstand, Kreatinin-Clearance, Resorptionsfraktion Natrium, Tubulärer Natriumtransport, Sauerstoffverbrauch und Diurese. Die Ergebnisse werden auf 100g Nierengewicht bezogen. Des Weiteren werden die Urin/ Plasma Relationen Osmolalität, Protein, Kreatinin und Glukose bestimmt.

4.5 Datenverarbeitung und statistische Auswertung

Folgende Computerprogramme dienen zur Erstellung der Arbeit: Microsoft Word Office 2000 zur Textverarbeitung und Microsoft Excel Office 2000 zur Datenerfassung und -bearbeitung sowie SPSS Version 13 zur statistischen Auswertung der Ergebnisse und Darstellung der Boxplots. Aufgrund der kleinen Stichprobengröße wird zur Darstellung der Daten der Median mit dazugehörigen Perzentilen gewählt. Zur graphischen Darstellung der Ergebnisse werden „Box-and-Whisker-Plot-Diagramme“ verwendet, wobei die Messzeitpunkte 60, 120 und 180 Minuten dargestellt und für die statistischen Berechnungen herangezogen werden. Gemäß der Vorgaben für nicht-normalverteilte Daten wird zur Errechnung der statistischen Signifikanz für den Vergleich der Werte in den Perfusionsphasen der Mann-Whitney-U-Test herangezogen. Eine Signifikanz wird angenommen, wenn $p < 0,05$ ist.

³⁵ Radiometer, Kopenhagen

³⁶ Radiometer, Kopenhagen

³⁷ Onkometer BMT 921, Thomae, BMT Messtechnik GmbH, Berlin

5 ERGEBNISSE

Nach zweistündiger hypothermer Lagerung werden 18 Nieren in drei Gruppen (je n=6) 180 Minuten lang perfundiert.

5.1 Nierengewichte

In der Gruppe I liegt der Median nach Organentnahme bei 75g, nach Konservierung bei 93,3g und nach Perfusion bei 96,8g. In der Gruppe II liegt der Wert jeweils bei 107g, 120,5g und 136,8g. In der Gruppe III bei 66g, 84g und 89,7g. Es kommt innerhalb aller drei Gruppen jeweils zu einer signifikanten Gewichtszunahme zwischen Ausgangsgewicht und Endgewicht. Die relative Gewichtszunahme im Vergleich zum Ausgangsgewicht unterscheidet sich jedoch zwischen den drei Gruppen weder nach der Konservierung noch nach Perfusionsende.

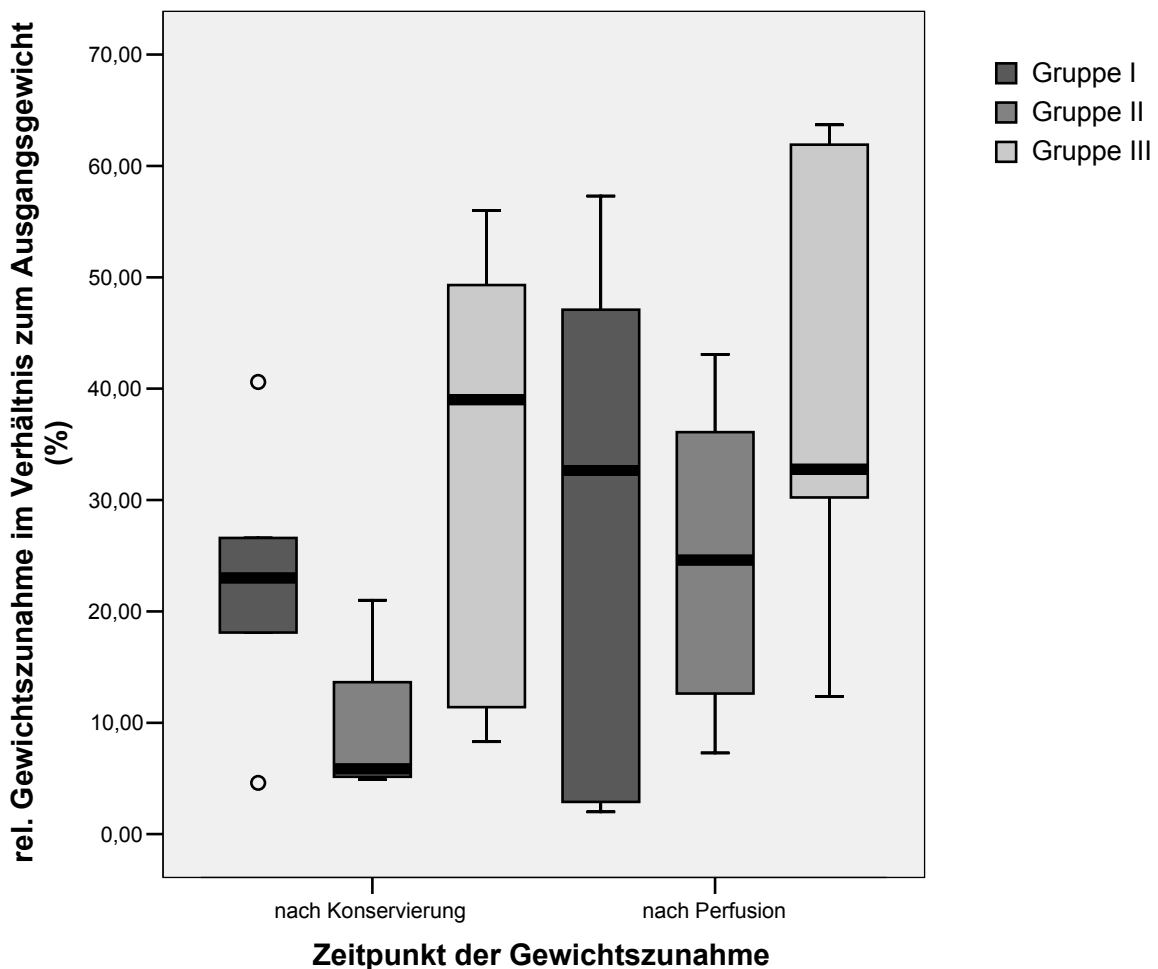


Abbildung 4: relative Gewichtszunahme der Nieren in den Gruppen I-III nach Konservierung und nach Perfusion. Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprost (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte und Ausreißer (?).

5.2 Hämodynamische Parameter

5.2.1 Blutfluss

Der Median der Gruppe I liegt nach 60 Minuten bei 100,14 ml/min*100g, nach 120 Minuten bei 120,05 ml/min*100g und nach 180 Minuten bei 136,26 ml/min*100g. In der Gruppe II liegt der Medianwert nach 60 Minuten bei 210,87 ml/min*100g, nach 120 Minuten bei 254,24 ml/min*100g und nach 180 Minuten bei 251,95 ml/min*100g. In der Gruppe III hat der Blutfluss einen anfänglichen Medianwert von 150,99 ml/min*100g und nach 120 Minuten von 171,35 ml/min*100g. Nach 180 Minuten Perfusion ist der Medianwert auf 249,85 ml/min*100g angestiegen. Der renale Blutfluss ist sowohl in Gruppe II als auch in Gruppe III zu allen drei Messzeitpunkten signifikant höher als in Gruppe I. Zwischen der Gruppe II und der Gruppe III bestehen zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede.

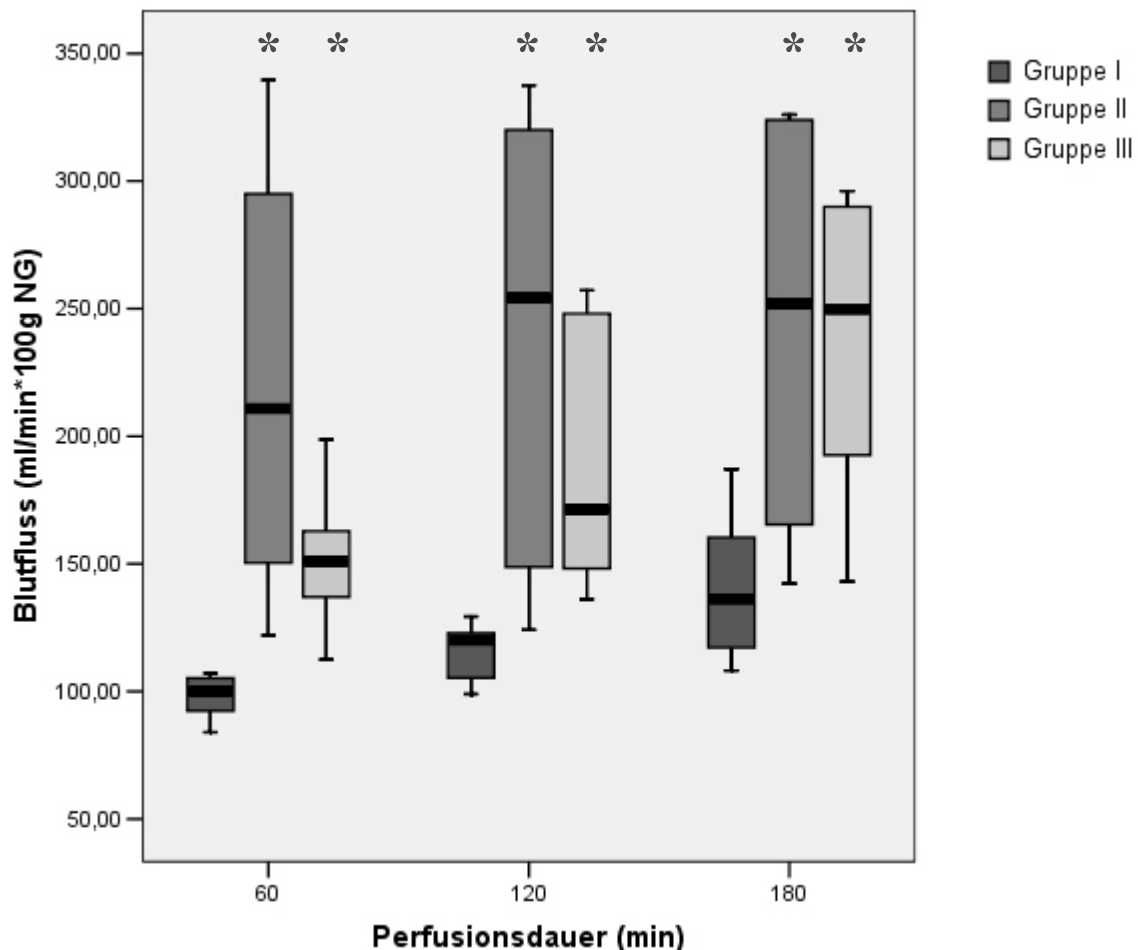


Abbildung 5: Vergleichende Darstellung des Blutflusses in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprost (n=6).

Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte. * = signifikant höhere Medianwerte der Gruppe II und III gegenüber Gruppe I.

5.2.2 Organwiderstand

Der Organwiderstand nimmt während der Perfusion in allen drei Gruppen ab. In der Gruppe I liegt der Medianwert nach 60, 120 und 180 Minuten bei 0,91, 0,71 und 0,66 mmHg*min*100g/ml. In der Gruppe II liegt der Medianwert nach 60, 120 und 180 Minuten bei 0,35, 0,33 und 0,30 mmHg*min*100g/ml. Der Median der Gruppe III liegt nach 60, 120 und 180 Minuten bei 0,61, 0,5 und 0,35 mmHg*min*100g/ml. Sowohl Gruppe II als auch Gruppe III weisen zu allen Messzeitpunkten einen signifikant niedrigeren Organwiderstand als Gruppe I auf. Lediglich nach 60minütiger Perfusion ist der Organwiderstand der Gruppe II auch signifikant niedriger als der der Gruppe III, dieser Unterschied ist jedoch später nicht mehr nachweisbar.

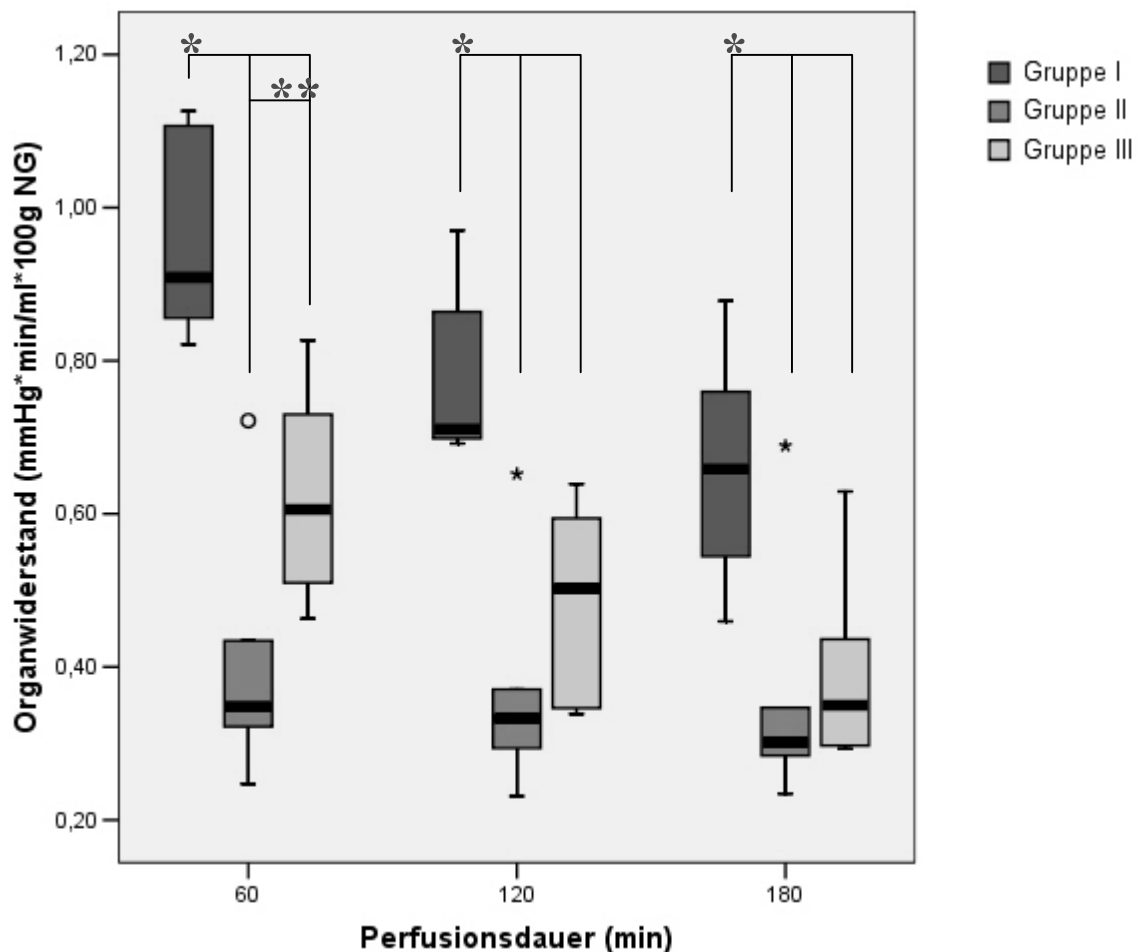


Abbildung 6: Vergleichende Darstellung des Organwiderstandes in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprost (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte, Ausreißer (°) und Extremwerte (*). * = signifikant höherer Medianwert der Gruppe I gegenüber den Gruppen II und III. ** = signifikant höherer Medianwert der Gruppe III gegenüber der Gruppe II.

5.3 Nierenfunktionsparameter

5.3.1 Kreatinin-Clearance

Die Medianwerte der Gruppe I zeigen nur geringfügige Änderungen. Nach 60 Minuten liegt er bei 10,91 ml/min*100g, nach 180-minütiger Perfusion bei 11,02 ml/min*100g. In der Gruppe II liegt der Medianwert mit 28,09 ml/min*100g nach 60-minütiger Perfusion subjektiv deutlich über denen der anderen Gruppen. Gegen Perfusionsende sinkt er auf einen Wert von 20,43 ml/min*100g. Auch der Medianwert der Gruppe III nach 60 Minuten Perfusionsdauer mit 19,16 ml/min*100g ist nahezu doppelt so groß wie der Median der Gruppe I. Gegen Ende der Perfusion sinkt der Median auf 10,23 ml/min*100g. Signifikante Unterschiede in der Kreatinin-Clearance zwischen den drei Gruppen bestehen jedoch zu keinem Zeitpunkt.

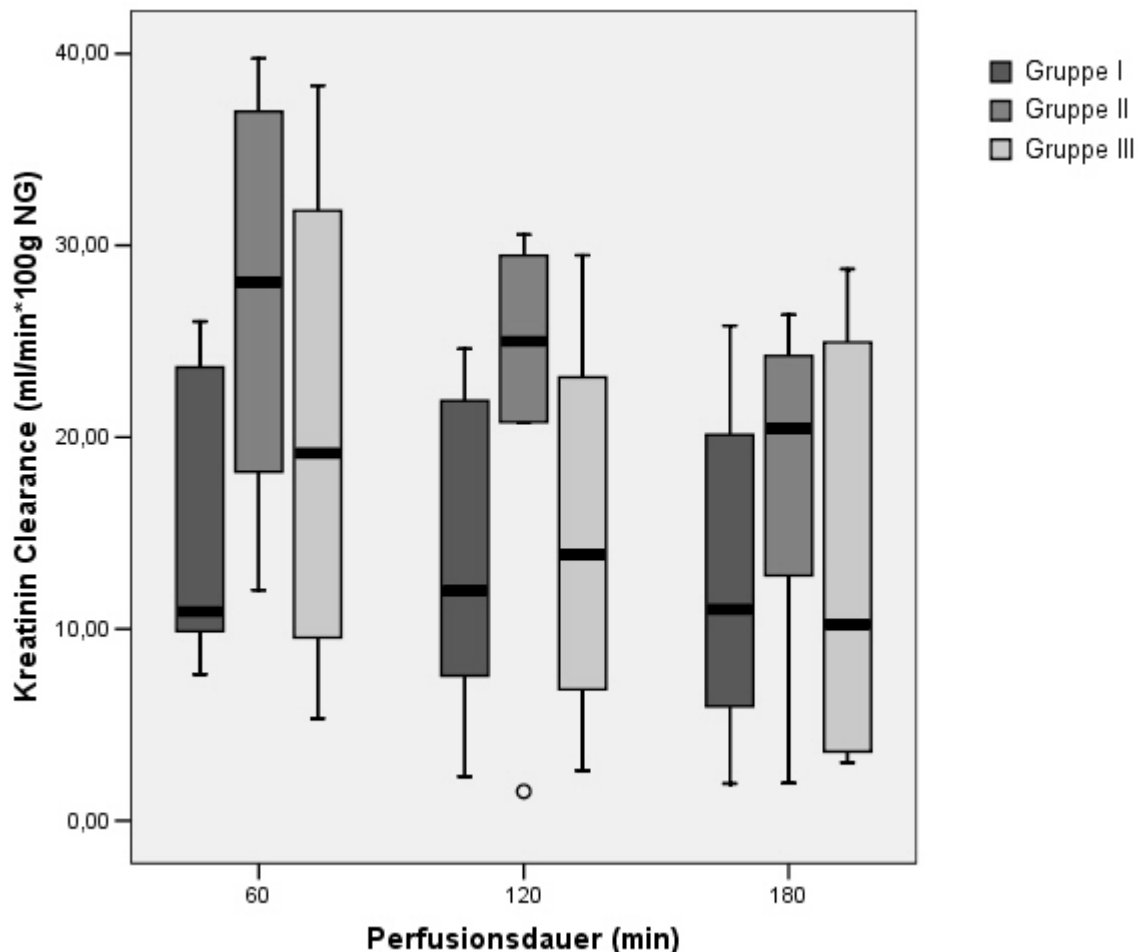


Abbildung 7: Vergleichende Darstellung der Kreatinin-Clearance in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte und Ausreißer (?).

5.3.2 Filtrationsfraktion

In der Gruppe I verringert sich der Medianwert von anfänglich 15,55 % auf 9,6 %. Der Median der Gruppe II liegt nach 60-minütiger Perfusion bei 16,58 % und sinkt gegen Perfusionsende auf 11,86 %. Die Filtrationsfraktion der Gruppe III hat nach 60 Minuten Perfusiondauer einen Medianwert von 11,88 % und sinkt auf einen Wert von 6,86 % nach 180-minütiger Perfusion. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen zu keinem Perfusionszeitpunkt.

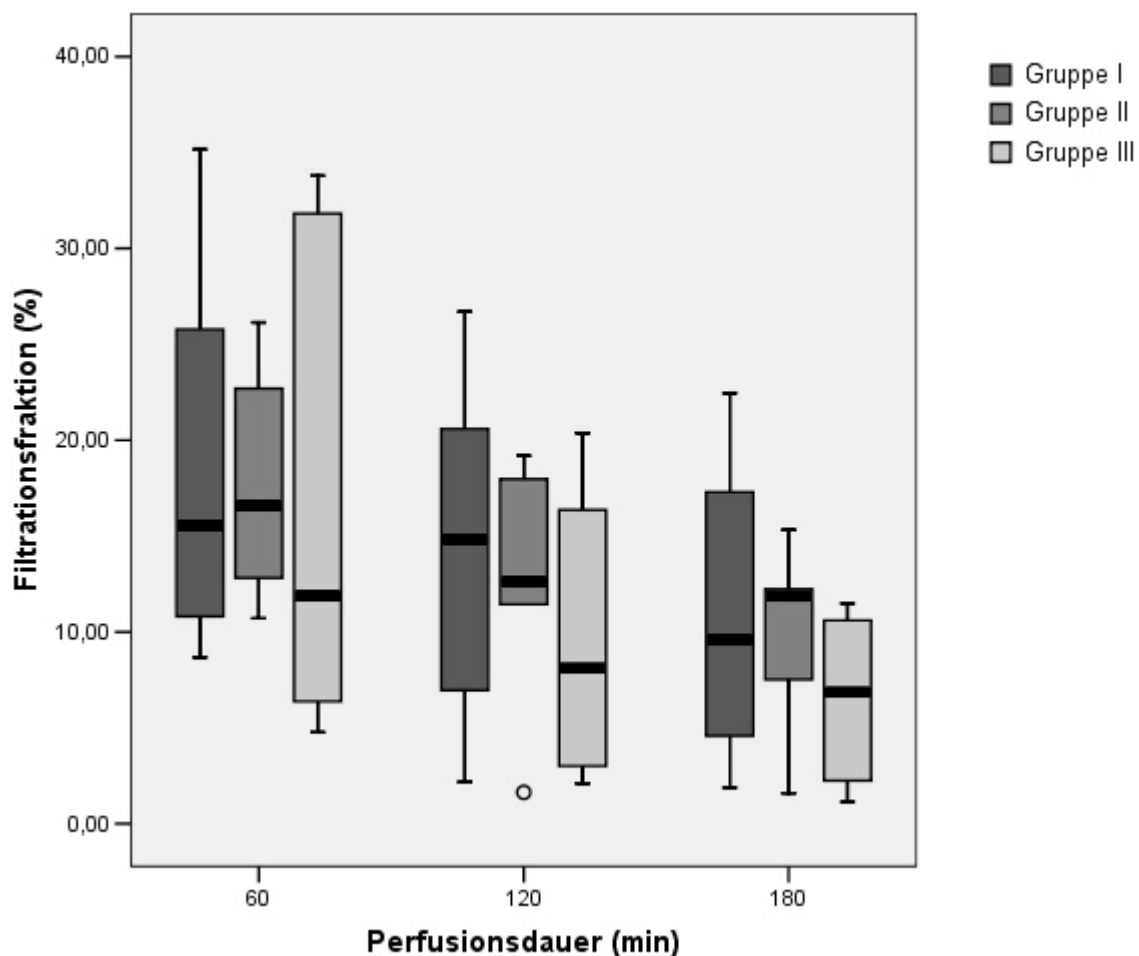


Abbildung 8: Vergleichende Darstellung der Filtrationsfraktion in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte und Ausreißer (?).

5.3.3 Sauerstoffverbrauch

In der Gruppe I liegt der Medianwert des Sauerstoffverbrauchs nach einer Perfusiondauer von 60 Minuten bei 138,66 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$, nach 120 Minuten bei 111,67 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$ und zum Perfusionsende bei 117,28 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$. Der Median der Gruppe II hat nach 60-minütiger Perfusion einen Wert von 103,21 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$, nach 120-minütiger Perfusion

von 97,58 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$ und nach 180-minütiger Perfusion von 82,14 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$. Auffallend ist der höhere Sauerstoffkonsum der Gruppe III. Nach 60-minütiger Perfusion liegt der Median mit 203,15 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$ deutlich über denen der anderen Gruppen. Nach 120 Minuten Perfusion liegt der Median bei 170,76 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$. Zum Perfusionsende sinkt der Median auf einen Wert von 164,50 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$. Zwischen der Gruppe I und der Gruppe II können keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Sauerstoffverbrauchs festgestellt werden. Der Sauerstoffverbrauch der Gruppe III ist jedoch zu allen Messzeitpunkten signifikant höher als in Gruppe I. Auch im Vergleich zur Gruppe II verbraucht Gruppe III signifikant mehr Sauerstoff, jedoch ist dieser Unterschied nur nach 60 und 120 Minuten nachweisbar, am Ende der Perfusion nicht mehr.

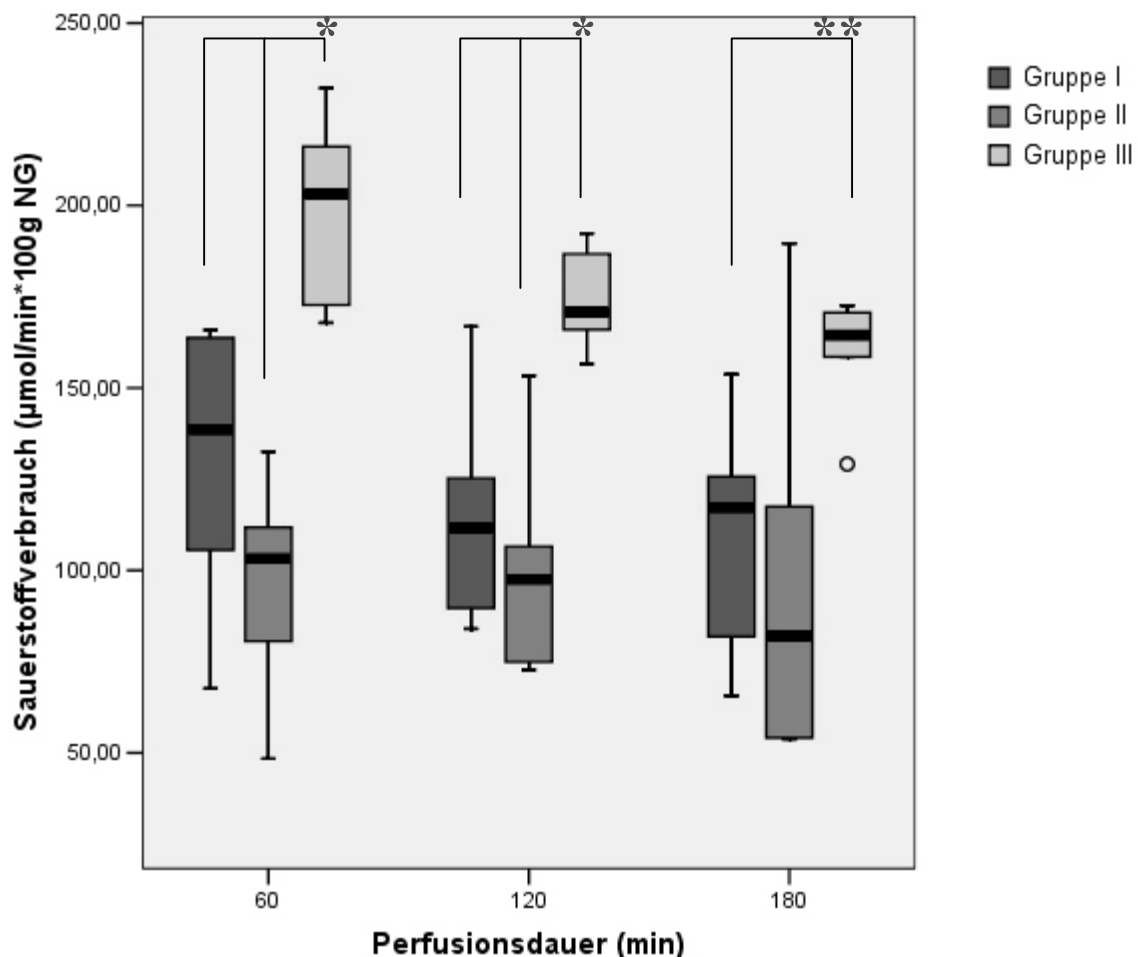


Abbildung 9: Vergleichende Darstellung des Sauerstoffverbrauchs in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte und Ausreißer (°). * = signifikant höherer Medianwert der Gruppe III gegenüber den Gruppen I und II. ** = signifikant höherer Medianwert der Gruppe III gegenüber der Gruppe I.

5.3.4 Tubulärer Natriumtransport

Der tubuläre Natriumtransport in der Gruppe I ändert sich während des Perfusionsverlaufs nur geringfügig. Nach 60 Minuten liegt der Median bei 1,43 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$, am Perfusionsende bei 1,41 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$. In der Gruppe II liegt der Median nach 60 Minuten Perfusion bei 3,37 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$ und sinkt nach 180 Perfusionsminuten auf 2,41 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$. Der anfängliche Medianwert der Gruppe III liegt bei 2,54 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$ und sinkt am Perfusionsende auf einen Median von 1,40 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$. Signifikante Unterschiede sind zwischen den Gruppen zu keinem Zeitpunkt vorhanden.

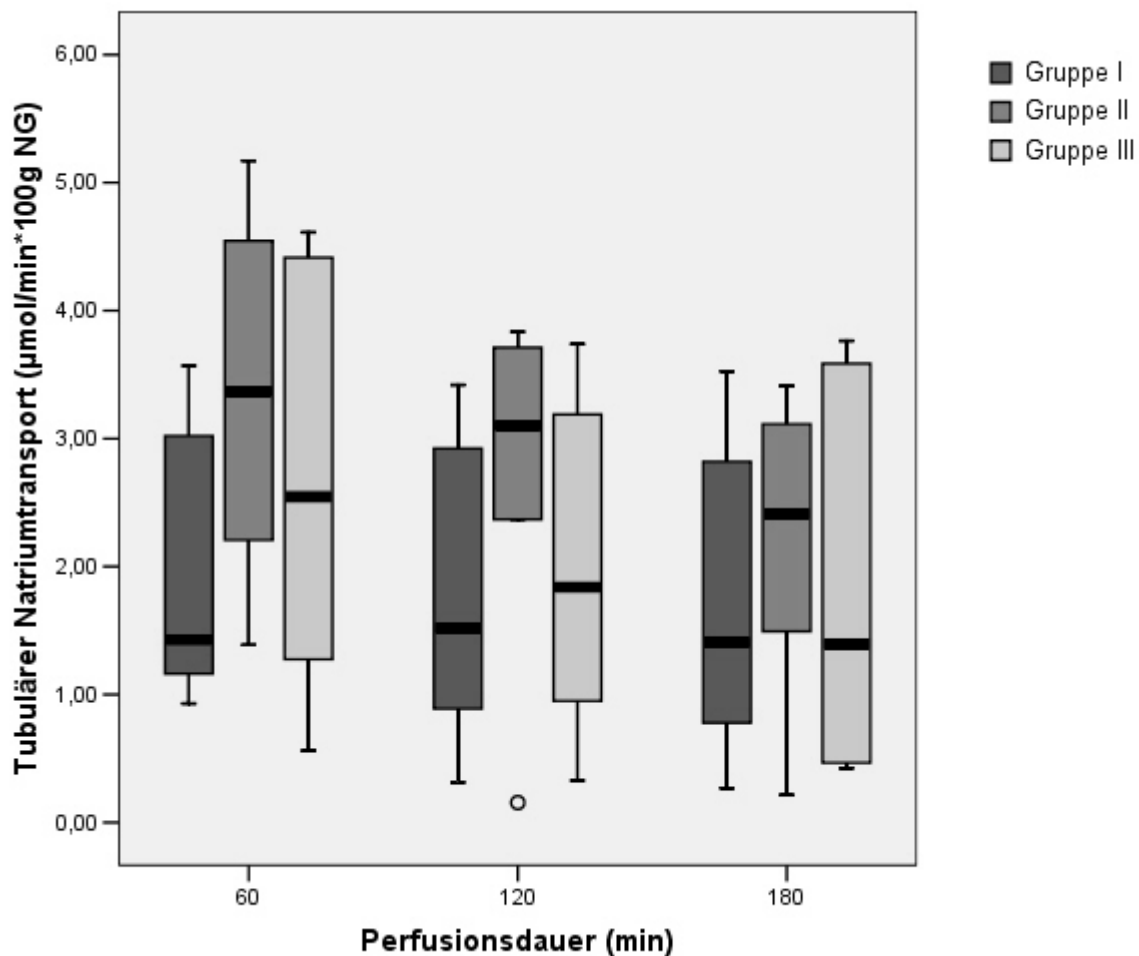


Abbildung 10: Vergleichende Darstellung des Tubulären Natriumtransports in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte und Ausreißer (?).

5.3.5 Resorptionsfraktion Natrium

Der Median der Gruppe I liegt nach 60 Minuten Perfusion bei 89,99 % und erhöht sich gegen Perfusionsende auf 93,54 %. In der Gruppe II liegt der Medianwert nach 60-minütiger Perfusion bei 91,04 % und erhöht sich gegen Ende der Perfusion geringfügig auf 92,53 %. Ähnlich verhält sich der Median in der Gruppe III. Nach 60-minütiger Perfusion liegt er bei 88,83 % und erhöht sich auf 92,17 % nach 180 Perfusionsminuten. Signifikante Unterschiede sind zwischen den verschiedenen Gruppen während der gesamten Perfusion nicht vorhanden.

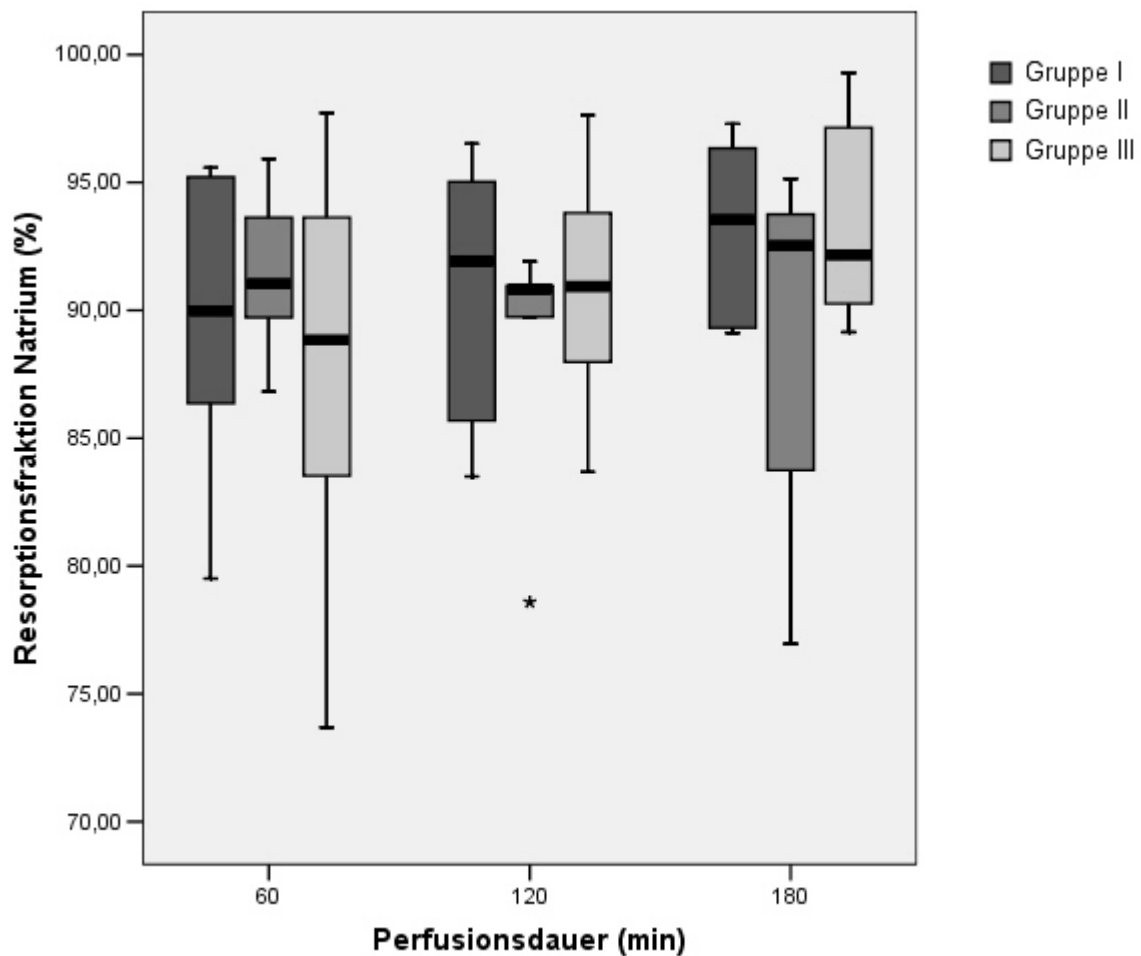


Abbildung 11: Vergleichende Darstellung der Resorptionsfraktion Natrium in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte und Extremwerte (*).

5.3.6 Diurese

In der Gruppe I liegt der Medianwert nach 60 Minuten Perfusion bei 1,35 ml/min*100g, nach 120 Minuten bei 1,34 ml/min*100g und verringert sich nach 180-minütiger Perfusion auf einen Medianwert von 0,78 ml/min*100g. In der Gruppe II liegt der 60-minütige Medianwert bei 2,80 ml/min*100g, steigt nach 120 Perfusionsminuten kurzzeitig auf 3,30 ml/min*100g an und sinkt am Perfusionsende auf 1,73 ml/min*100g ab. Der Medianwert der Gruppe III hat nach 60 Perfusionsminuten einen Wert von 1,66 ml/min*100g, nach 120 Minuten von 1,11 ml/min*100g und erniedrigt sich auf einen Wert von 0,67 ml/min*100g nach 180 Perfusionsminuten. Nach 120 Minuten produziert die Gruppe II signifikant mehr Harn als die Gruppe I. Weitere Signifikanzen können zu anderen Perfusionszeitpunkten zwischen den Gruppen nicht nachgewiesen werden.

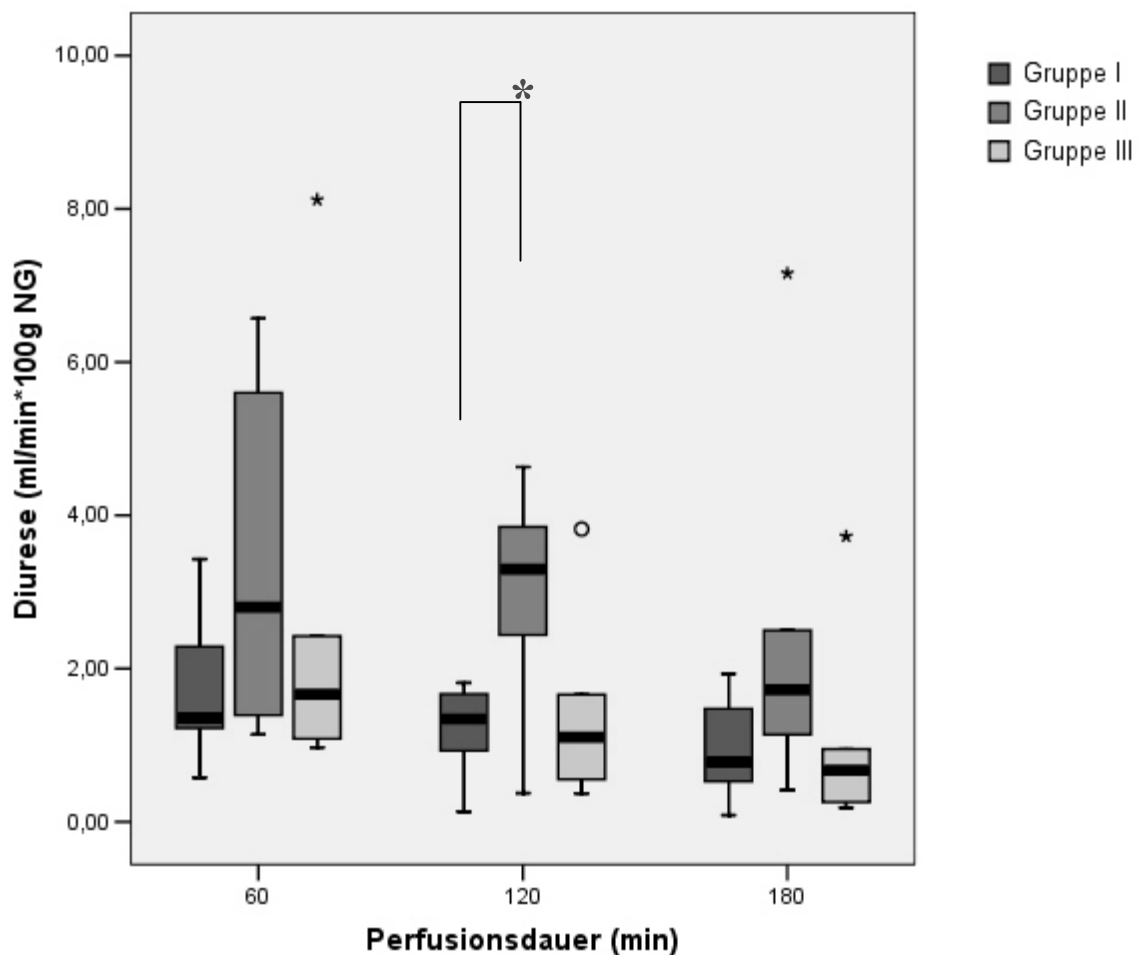


Abbildung 12: Vergleichende Darstellung der Diurese in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte, Ausreißer (○) und Extremwerte (*). *=signifikant höherer Medianwert der Gruppe II gegenüber der Gruppe I.

5.3.7 Osmolalität, Urin/Plasma-Relation

Die Mediane der einzelnen Gruppen unterscheiden sich nur geringfügig. Der Median der Gruppe I liegt nach 60-minütiger Perfusion bei einem Wert von 1,05, nach 180-minütiger Perfusion bei 1,10. In der Gruppe II liegt der Median nach 60 Perfusionsminuten bei 1,04 und nach 180 Minuten bei 0,98. Auch in der Gruppe III unterscheiden sich die Medianwerte nur geringfügig. Der Median liegt nach 60 Minuten bei einem Wert von 1,02 und liegt gegen Perfusionsende bei 1,03. Signifikante Unterschiede der Werte sind zwischen den Gruppen zu keinem Perfusionszeitpunkt nachweisbar.

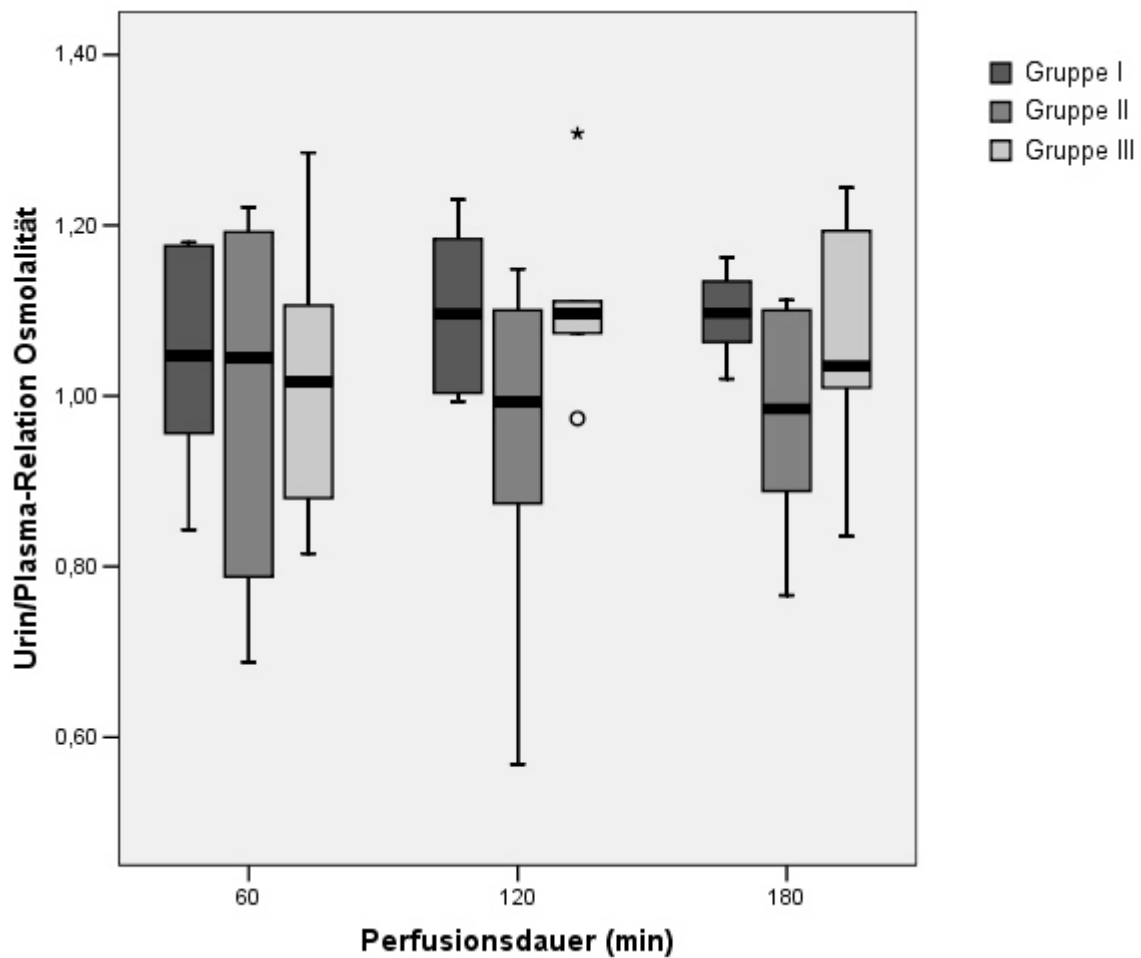


Abbildung 13: Vergleichende Darstellung der Urin/Plasma-Relation der Osmolalität in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte, Ausreißer (°) und Extremwerte (*).

5.3.8 Kreatinin, Urin/Plasma-Relation

Der Median der Gruppe I liegt nach 60-minütiger Perfusion bei 8,22 und erhöht sich nach 180-minütiger Perfusion auf einen Wert von 14,39. Der 60-minütige Medianwert der Gruppe II liegt bei 7,63, erhöht sich dagegen gegen Perfusionsende auf einen Median von 10,89. Ähnlich verhält sich der Median in der Gruppe III mit einem Wert von 7,98 nach 60 Perfusionsminuten und 10,04 nach 180 Minuten. Eine Signifikanz der unterschiedlichen Urin-/Plasma-Relationen zwischen den Gruppen kann zu keinem Zeitpunkt nachgewiesen werden.

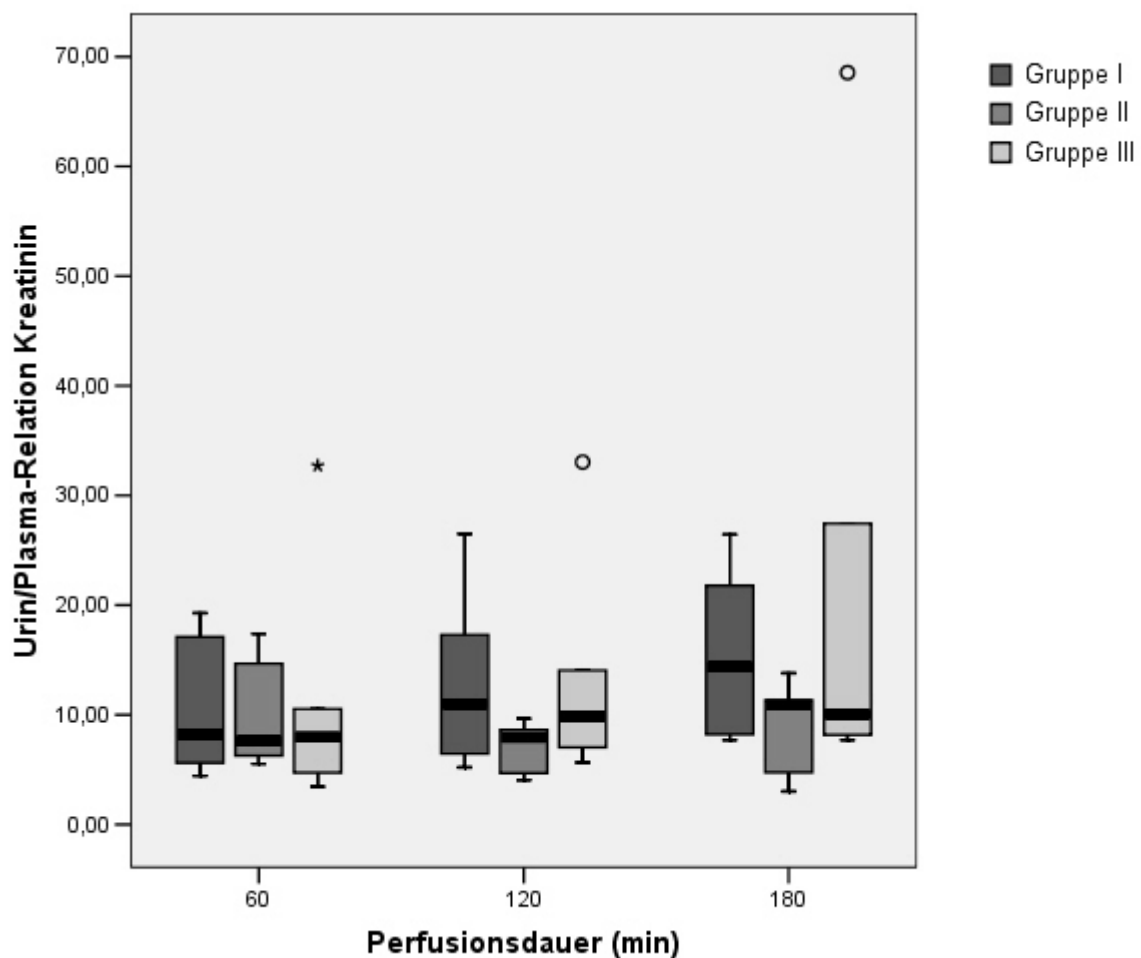


Abbildung 14: Vergleichende Darstellung der Urin/Plasma-Relation von Kreatinin in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte, Ausreißer (○) und Extremwerte (*).

5.3.9 Proteinkonzentration, Urin/Plasma-Relation

In der Gruppe I liegt der Medianwert nach 60-minütiger Perfusion bei 0,0314, nach 120-minütiger Perfusion bei 0,142 und nach 180 Minuten bei 0,0125. Die Medianwerte der Gruppe II liegen nach 60 Minuten bei 0,0136, nach 120 Minuten bei 0,0061 und nach 180 Minuten bei 0,0062. In der Gruppe III liegt der Medianwert nach 60 Minuten bei 0,0498, nach 120 Minuten bei 0,0298 und am Perfusionsende bei 0,0427. Die Gruppe II weist nach 120 Minuten eine signifikant niedrigere Proteinausscheidung als die Gruppen I und III auf. Nach 180 Minuten besteht dieser Unterschied zur Gruppe I nicht mehr, jedoch noch zur Gruppe III.

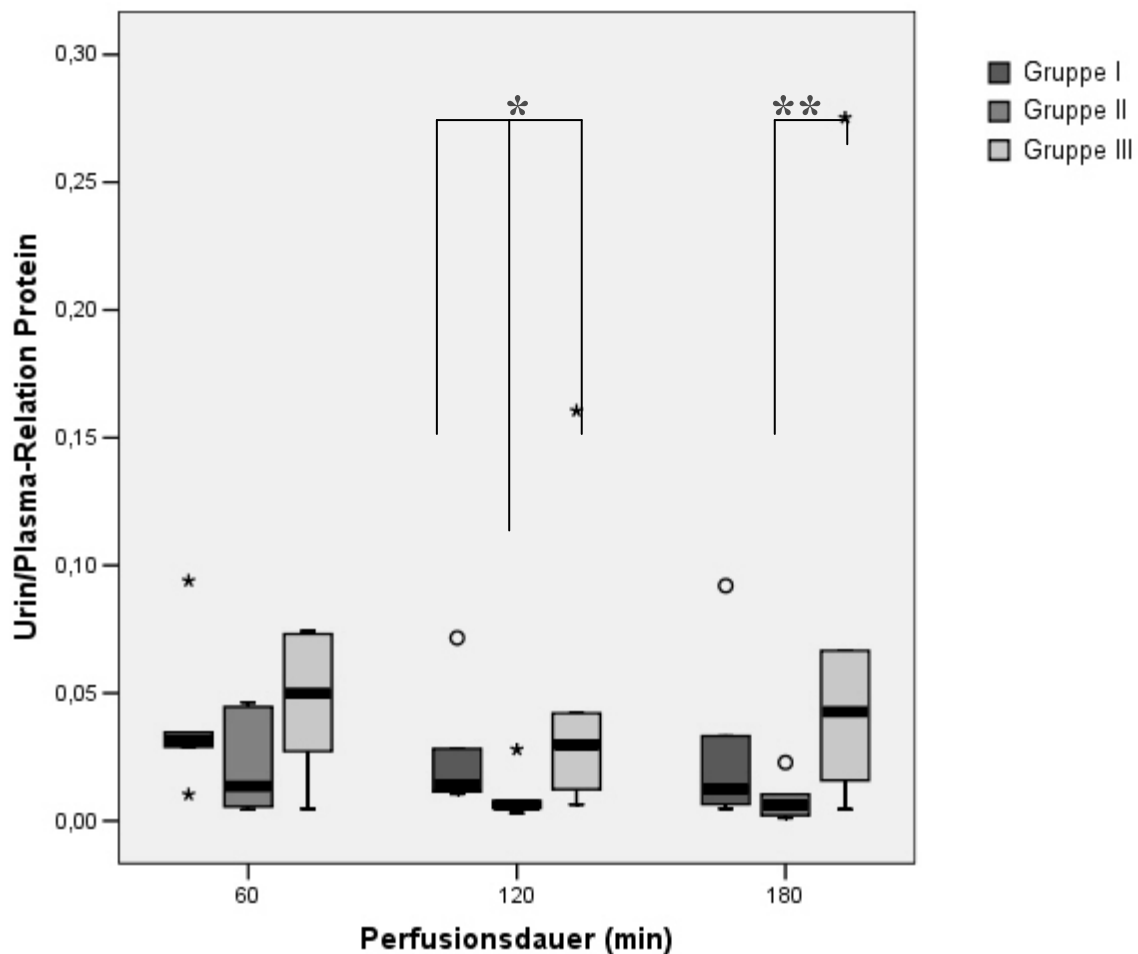


Abbildung 15: Vergleichende Darstellung der Urin/Plasma-Relation der Proteinkonzentration in den Gruppen I-III: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte, Ausreißer (○) und Extremwerte (*). * = signifikant niedrigerer Medianwert der Gruppe II gegenüber den Gruppen I und III. ** = signifikant niedrigerer Medianwert der Gruppe II gegenüber der Gruppe III.

5.3.10 Glukosekonzentration, Urin/Plasma-Relation

Der Median der Gruppe I liegt nach 60-minütiger Perfusion bei 0,45, nach 120 Perfusionsminuten bei 0,29 und sinkt nach 180 Minuten auf einen Wert von 0,25. In der Gruppe II liegt er bei 0,31 nach 60 Perfusionsminuten, bei 0,15 nach 120 Minuten und sinkt auf einen Medianwert von 0,13 nach 180 Perfusionsminuten ab. Der Median der Gruppe III verhält sich ähnlich dem der Gruppe I. Mit Werten von 0,47 nach 60-minütiger Perfusion und 0,26 nach 120-minütiger Perfusion sinkt er gegen Perfusionsende auf einen Medianwert von 0,35. Die Glukoseausscheidung über den Harn ist nach 120 Minuten in Gruppe II signifikant niedriger als in Gruppe I. Weitere signifikante Unterschiede können zu anderen Zeitpunkten zwischen den Gruppen nicht nachgewiesen werden.

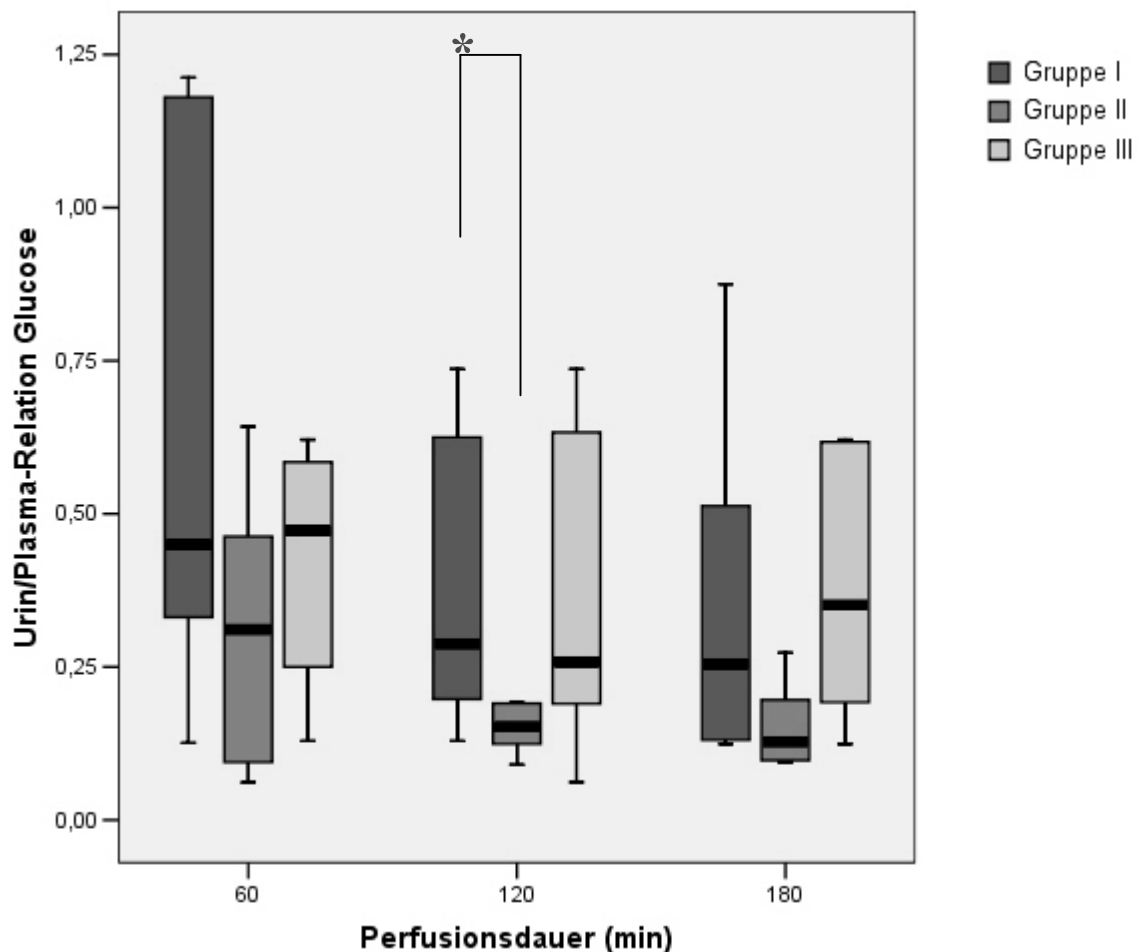


Abbildung 16: Vergleichende Darstellung der Urin/Plasma-Relation der Glukosekonzentration in den Gruppen I-III.: Gruppe I = HTK-Lösung (n=6), Gruppe II = Baeyer-2-Lösung (n=6), Gruppe III = HTK-Lösung mit Iloprostzusatz (n=6). Dargestellt sind Median, Quartile, Mini- und Maximalwerte. * = signifikant niedrigerer Medianwert der Gruppe II gegenüber der Gruppe I.

6 DISKUSSION

Die Funktionalität eines zu transplantierenden Organs hängt davon ab, in welchem Ausmaß bei den Vorgängen der Organgewinnung, -konservierung und Reperfusion irreversible Zellschäden auftreten. Ein wichtiger Aspekt ist daher die stetige Verbesserung anwendbarer Konservierungslösungen. In der vorliegenden Arbeit sollte die Wirkung einer Konservierungslösung mit Zusatz von Iloprost, eines Prostazyklinanalogons, im Vergleich mit der Wirkung von zwei weiteren Konservierungslösungen auf die Nierenfunktion im Modell der isoliert normotherm hämoperfundierten Schweineniere untersucht werden.

6.1 Methode

Für die Konservierung wurde die herkömmliche Methode der hypothermen Lagerung in Konservierungslösung nach initialer Spülung angewendet. In tierexperimentellen Studien (HOSGOOD et al. 2010) und auch in klinischen Multicenterstudien (TRECKMANN et al. 2011, GALLINAT et al. 2012) erwies sich die Methode der maschinellen Perfusionskonservierung geeigneter, eine gute Organvitalität aufrecht zu erhalten. Im Falle von ECD (expanded criteria donor)-Nieren wird durch die maschinelle Perfusion das Auftreten von DGF (delayed graft function) und PNF (primary non-function) signifikant reduziert (TRECKMANN et al. 2011). Bei Nierenspendern älter als 65 Jahre wird die PNF reduziert und das 1-Jahres-Transplantatüberleben nach DGF signifikant erhöht (GALLINAT et al. 2012). Jedoch gibt es auch Studien, in denen maschinelle Perfusionskonservierung und hypotherme Lagerung gleichwertig abschneiden. Watson und Mitarbeiter (2010) untersuchten die Ergebnisse nach Transplantation von DCD (donated after cardiac death)-Nieren. Hier gab es zwischen den beiden Konservierungsmethoden keinen Unterschied bezüglich des Auftretens von DGF, und die Transplantat- und Patientenüberlebenszeiten unterschieden sich nicht.

Die Methode der maschinellen Perfusion erschien für die vorliegende Arbeit aus Kostengründen ungeeignet, des Weiteren wurde die gewählte Methode zum Vergleich verschiedener Konservierungslösungen als adäquat angesehen.

Bei dem verwendeten Perfusionsmodell handelt es sich um eine etablierte Technik, die von VON BAEYER (1997) erstmals beschrieben wurde und als Tierversuchersatzmodell Anwendung finden kann (GROSSE-SIESTRUP et al. 2002c). Unter Verwendung von autologem Blut als Perfusionsmedium können die Wirkungen von Arzneimitteln und Konservierungslösungen über die Beurteilung renaler Funktionsparameter untersucht werden. Autologes Blut als Perfusionsmedium ist gegenüber dem Einsatz synthetischer Perfusionslösungen von Vorteil (HOECHEL et al. 2003). Die Verwendung von Schweinenieren

ist aufgrund ihrer morphologischen Ähnlichkeit zu menschlichen Nieren sinnvoller als die kleiner Labortiere (SWINDLE et al. 1994). Durch die Anwendung einer isolierten Organperfusion lassen sich außerdem die negativen Auswirkungen einer Allgemeinanästhesie auf die Nierenfunktion vermeiden, die bei der Verwendung lebender Labortiere beachtet werden müssen (GRAUER 2006).

Iloprost wurde in der tierexperimentellen Transplantationsforschung bereits mit positiven Ergebnissen eingesetzt. Durch eine Spenderkonditionierung mit Iloprost konnten verbesserte hämodynamische Verhältnisse in zu transplantierenden Schweinenieren hergestellt werden (REBMANN et al. 1985, HEYNEMANN et al. 1986). Iloprost wurde auch schon als Zusatz zu einer Konservierungslösung untersucht. SANCHEZ-URDAZPAL und Mitarbeiter (1991) verbesserten die protektiven Eigenschaften der Euro-Collins- und der UW-Lösung bei der Konservierung von Rattenlebern, CHANGANI und Mitarbeiter (1999) verbesserten die Konservierung von Schweinelebern indem sie der UW-Lösung Iloprost zusetzten. In einer aktuellen Studie untersuchten BARUN und Mitarbeiter (2011) den Effekt von Iloprost als Zusatz zur HTK-Lösung bei der Konservierung von Rattenuteri. Die Organe wurden 4 bzw. 24 Stunden hypotherm in HTK-Lösung und in HTK-Lösung mit Iloprostzusatz gelagert. Bezüglich des Gehalts an Malondialdehyd und Stickstoffmonoxid als Marker für oxidativen Stress gab es zwischen den Konservierungslösungen keinen Unterschied. Nach 24 Stunden waren jedoch die histologischen Schäden in der Gruppe mit Iloprost geringer ausgeprägt.

Als Zusatz zu einer standardmäßigen Konservierungslösung im Modell der normotherm isoliert perfundierten Schweineniere wurde Iloprost nach Kenntnisstand der Autorin bislang noch nicht untersucht. Es konnten alle drei Konservierungslösungen mit der gewählten Methode der isolierten Nierenperfusion erfolgreich untersucht und zur Organprotektion verwendet werden. Einen Vergleich zwischen HTK-Lösung und Baeyer-2-Lösung stellten bereits FEHRENBURG et al. (2004) an, wobei in ihrer Studie die Baeyer-2-Lösung überlegen schien. In der vorliegenden Arbeit wurde der Versuchsaufbau insofern modifiziert und optimiert, als dass pulsatile Pumpen anstatt von Rollenpumpen verwendet wurden. Dies senkt nach BENNETT die Hämolyserate (2004) und knüpft stärker an in vivo Bedingungen an (DEL CANIZO et al. 1998). Es wurde daher auch nochmals ein Vergleich zwischen der herkömmlichen HTK-Lösung und der Baeyer-2-Lösung angestellt.

6.2 Ergebnisse

6.2.1 Nierengewichte

Die Ausgangsgewichte der Nieren in der Gruppe II sind schwerer als in den anderen beiden Gruppen. Da die einzelnen Organ- und Funktionsparameter jedoch auf 100g Nierengewicht berechnet werden, sollte dies keinen Einfluss auf die Ergebnisse haben. Innerhalb der

einzelnen Gruppen werden die Nieren jeweils zwischen Ausgangs- und Endgewicht signifikant schwerer. Die Ursache hierfür ist gruppenübergreifend am ehesten in einer ischämiebedingten mikrovaskulären Permeabilitätsstörung mit nachfolgender interstitieller Ödembildung zu sehen. Ein Unterschied in der relativen Gewichtszunahme zwischen den einzelnen Gruppen besteht jedoch nicht. Die relative Gewichtszunahme ist subjektiv in der Gruppe III zwar am stärksten ausgeprägt, was evtl. mit den vasodilatatorischen Eigenschaften des Iloprosts und dadurch mit einem höheren Flüssigkeitsvolumen in den betroffenen Nieren erklärt werden könnte. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

6.2.2 Renaler Blutfluss und Organwiderstand

Zwischen den drei Gruppen bestehen Unterschiede im renalen Blutfluss. Durch die Zugabe von Iloprost zur herkömmlichen HTK-Lösung verbessert sich der Blutfluss in Gruppe III signifikant im Vergleich zur Gruppe I. Dies lässt sich mit der durch Iloprost hervorgerufenen Vasodilatation erklären. Im Zusammenhang mit der Leukozytenadhäsions- und Thrombozytenaggregationshemmung und der profibrinolytischen Wirkung des Iloprosts können Mikrozirkulationsstörungen weiter reduziert werden. Auch mit Baeyer-2-Lösung konservierte Nieren zeigen signifikant höhere Blutflusswerte als mit HTK-Lösung konservierte Nieren, wie auch schon von FEHRENBURG und Mitarbeitern (2004) festgestellt werden konnte. Ursächlich kommt hierfür die spezielle Elektrolytzusammensetzung in Frage, die zu einer sofortigen Unterbrechung aller sauerstoffverbrauchenden Zellvorgänge führt und damit die Bildung von Sauerstoffradikalen und ihre negativen Auswirkungen auf die Mikrozirkulation vermindert. Die Zugabe von Iloprost zur HTK-Lösung scheint hier keine weitere Verbesserung im Vergleich zur Baeyer-2-Lösung bewirken zu können, da bezüglich des Blutflusses keine signifikanten Unterschiede zwischen Gruppe II und III bestehen.

Der in vivo Mittelwert für den renalen Blutfluss beim Schwein wird mit 153 ± 81 ml/min/100g angegeben (LOKKEGARD 1972). Vor allem zu Beginn der Perfusion ist in der Gruppe I der Blutflusswert mit $100,14$ ml/min*100g schlechter als der Mittelwert bei gesunden Schweinen und erreicht auch bis zum Perfusionsende diesen Wert nicht. Demgegenüber weist die Gruppe III mit Iloprostzusatz einen Blutflusswert von 151 ml/min*100g auf, der dem genannten Mittelwert nahezu entspricht. Die Blutflusswerte in der Gruppe II liegen dauerhaft über dem in vivo Wert. Ein zu niedriger Blutfluss kann sich negativ auf die Nierenfunktion auswirken, sodass diesbezüglich sowohl die mit Baeyer-2-Lösung als auch die mit Iloprostzusatz konservierten Nieren den mit herkömmlicher HTK-Lösung konservierten Nieren überlegen sind.

Der Organwiderstand verhält sich entsprechend den Ergebnissen des Blutflusses: Er ist in Gruppe II und III signifikant niedriger als in Gruppe I, was auf die oben genannten Mechanismen zurückzuführen ist.

Außerdem ist zu Beginn der Perfusion in den einzelnen Gruppen ein erhöhter Widerstand zu verzeichnen, welcher mit zunehmender Dauer absinkt. Die durch Infusion der kalten Konservierungslösung ausgelöste Vasokonstriktion hat wahrscheinlich einen wesentlichen Einfluss auf den erhöhten Grundwiderstand zu Beginn der Reperfusion, zumal dieser ja auch im weiteren Verlauf der Perfusion in allen drei Gruppen absinkt, wie auch bei den Schweinen in der Studie von BREIMER und Kollegen (1996).

Auch bei dem Modell der isolierten Rattenniere ist nach Ischämie der renale Widerstand erhöht (LIEBERTHAL et al. 1989).

Die Verminderung des Widerstandes im Verlauf der Perfusion ist auf verschiedene Ursachen zurückzuführen. Nach ca. 7-8 Minuten ist bei unseren Nieren mit 38°C eine konstante Temperatur erreicht. Der Widerstand sinkt im weiteren Verlauf noch weiter ab, insgesamt jedoch nicht bis auf ein normales Niveau. Eine rein mechanische Elastizitätserhöhung der Gefäßwände bei Wiedererwärmung auf eine für den Körper normale Temperatur kann einerseits der Grund dafür sein, andererseits lässt die Temperaturerhöhung Ionenkanäle und membranständige Transportproteine sowie die assoziierten biochemischen Reaktionen auf ihre ideale „Betriebstemperatur“ kommen (COSSINS und KILBEY 1990). BREIMER und Kollegen (1996) führen die Widerstandssenkung komplett auf die Temperaturerhöhung während der Reperfusion zurück.

6.2.3 Kreatinin-Clearance

In gewissen Grenzen ist die mit Hilfe von Kreatinin bestimmte Clearance proportional zur Inulin-Clearance und somit zur glomerulären Filtrationsrate (GFR) (HIERHOLZER und FROMM 1997). Die Kreatinin-Clearance liegt um 7% höher als die Inulin-Clearance (WALDMANN und WENDT 1991). Der physiologische Wert für die GFR liegt laut WALDMANN (1991) bei wachen, fixierten Schweinen bei $2,8 \pm 0,1$ ml/min/kg KG. Die Angaben beziehen sich allerdings auf zwei Nieren. Nach UNGER (2006, 2007) beträgt die Kreatinin-Clearance wacher, gesunder Schweine $76,1$ ml/min*100g NG. Für die Inulin-Clearance isoliert perfundierter Nieren werden Werte von 41- 67 ml/min/100g NG angegeben (BREIMER et al. 1996). Es ist bekannt, dass die Kreatinin-Clearance isoliert perfundierter Nieren geringer ist als in vivo (DE MELLO und MAACK 1976). Die Nieren der Gruppe II liefern höhere Werte als die der anderen Gruppen. In der Untersuchung von FEHRENBURG und Mitarbeitern (2004) war nach einstündiger Perfusion die Kreatinin-Clearance der mit Baeyer-2-Lösung konservierten Nieren ($13,0 \pm 3,2$ ml/min*100g NG) signifikant höher als die der mit HTK-Lösung konservierten Nieren ($4,1 \pm 1,3$ ml/min*100g NG). Dies ist als Maß für eine höhere GFR und damit eine bessere Nierenfunktion anzusehen. In unseren Versuchen liegt der Median der Gruppe II nach einstündiger Perfusion bei $28,09$ ml/min * 100 g NG und in der Gruppe I bei $10,91$ ml/min*100g NG. Subjektiv scheint die Gruppe II eine bessere Kreatinin-

Clearance aufzuweisen als die anderen beiden Gruppen, signifikante Unterschiede bestehen in unseren Versuchen jedoch zu keinem Zeitpunkt. Dies könnte z.T. auch durch die kleine Stichprobengröße bedingt sein.

Der Iloprostzusatz zur HTK-Lösung bewirkt zwar eine Erhöhung der Kreatinin-Clearance (19,16 ml/min*100g NG nach einstündiger Perfusion), diese nähert sich aber mit zunehmender Perfusion den Werten der Gruppe I an, ein signifikanter Unterschied ist nicht zu verzeichnen.

Die Kreatinin-Clearance ist ein Maß für die glomeruläre Filtrationsrate. Voraussetzung für die glomeruläre Filtration ist ein ausreichender renaler Blutfluss (HARTMANN 1994). Erniedrigte Blutflusswerte haben eine erniedrigte glomeruläre Filtration zur Folge. Wenn der renale Blutfluss bei gleichmäßiger Verteilung des Blutvolumens auf ein Drittel des Normalwertes sinkt, kommt die glomeruläre Filtration zum Erliegen.

Strukturelle Schäden in den Nephronen mit Übertritt des Filtrates ins Interstitium können ebenfalls eine verringerte GFR verursachen. Die dabei entstehenden Ödeme können Tubuli und Blutgefäße komprimieren und einen Circulus vitiosus entstehen lassen. Es gibt Hinweise, dass tiefer gelegene Nephrone stärker geschädigt werden als oberflächlich gelegene Nephrone. Bei Ratten wurde festgestellt, dass die Gesamt-GFR bei einer isolierten Nierenperfusion um 50% sinkt, aber dass die Einzelnephron-GFR oberflächlich gelegener Nephrone nur um 20-30% abnimmt (DE MELLO und MAACK 1976).

Ein verminderter Harnfluss kann durch verlegte Tubuli oder durch Übertritte des Filtrates ins Interstitium, dem „Backleak“-Phänomen, eine erniedrigte GFR verursachen. Hypoxie und toxische Zellschädigung verursachen den Verlust der Polarität von Tubuluszellen. Dadurch kommt es zu einer Neuverteilung der β 1-Integrine von der basolateralen auf die apikale Seite und zu einem Ablösen der Tubuluszellen von der Basalmembran. Es kommt zur Verlegung des Tubuluslumens und zum "Zurücklecken" des von proximal kommenden Filtrats ("Backleak") (JOANNIDIS 2008).

Infolge Ischämie und Hypoxie sind bei unseren Nieren vermutlich akut aufgetretene Tubulusnekrosen des proximalen Tubulus entstanden, welche weiter distal gelegene Tubulusabschnitte mit Detritus verlegen und somit eine Druckerhöhung im Lumen erzeugen könnten. Eine derartige Druckerhöhung würde die glomeruläre Filtration stark beeinträchtigen. Weitere Ursachen für verminderte glomeruläre Filtrationsraten sind durch afferente Vasokonstriktion, efferente Vasodilatation und verminderte Permeabilität der Glomerulumkapillaren zu vermuten. Möglicherweise entsteht die afferente Vasokonstriktion durch eine erhöhte Aktivität des Renin-Angiotensin-Systems, die auch für Perfusionen nachgewiesen wurde (NEEW-GALUSCHKA et al. 1998). Die höheren Werte, wenn auch nicht signifikant, der Gruppe III verglichen mit der Gruppe I sind vermutlich den positiven Eigen-

schaften des Iloprosts (Vasodilatation, Zytoprotektion, Thrombozytenaggregationshemmung, Verminderung der Gefäßpermeabilität in der Mikrozirkulation) zuzuschreiben.

6.2.4 Sauerstoffverbrauch

Der renale Sauerstoffverbrauch gibt Auskunft über die in der Niere ablaufenden aktiven Ionen-transportmechanismen. DEETJEN und KRAMER (1961) postulieren den proportionalen Zusammenhang von Natriumtransport und Sauerstoffverbrauch in der Niere. Die enge Beziehung zwischen Sauerstoffverbrauch und Natriumtransport, vor allem in der Markzone und dort hauptsächlich in den dicken aufsteigenden Schenkeln der Henleschen Schleife, wird auch in einer weiteren Studie angenommen (BREZIS et al. 1984). In allen drei Gruppen ist mit zunehmender Perfusionsdauer eine Abnahme des Sauerstoffverbrauchs zu verzeichnen. Dies lässt sich evtl. dadurch begründen, dass durch Ischämie vorgeschädigte Tubuluszellen während der Perfusion absterben und somit der Sauerstoffverbrauch sinkt. Eine andere Erklärung dafür wäre, dass die Niere mit zunehmender Perfusionsdauer zunehmend ökonomischer arbeitet. In gewisser Weise ist jedoch die Entwicklung des Natriumtransportes widersprüchlich, bzw. deren nahezu konstant bleibende Ergebnisse während der gesamten Perfusion. Auffallend ist der signifikant höhere Sauerstoffverbrauch der Gruppe III im Vergleich zur Gruppe I zu allen drei Messzeitpunkten, und im Vergleich zu Gruppe II zu den Zeitpunkten 60 und 120 Minuten. Eine mögliche Erklärung für den höheren Sauerstoffverbrauch in der Gruppe III könnte in den zytoprotektiven Eigenschaften des Iloprosts begründet liegen, bzw. dass weniger Zellen apoptotisch untergehen. Dann allerdings würde man bei anderen funktionellen Parametern, v.a. bei der Natriumrückresorption oder der Kreatinin-Clearance, auch bessere Untersuchungsergebnisse erwarten als in den anderen Gruppen, was nicht der Fall ist. Dass ein höherer Sauerstoffverbrauch nicht unbedingt mit einer besseren Funktionalität der Nieren assoziiert ist, zeigt die Untersuchung von FEHRENBURG und Mitarbeitern (2004). Hier schneiden die mit Baeyer-2-Lösung konservierten Nieren bei den Funktionsparametern Kreatinin-Clearance, Filtrationsfraktion und Natriumrückresorption besser ab, weisen aber einen deutlich niedrigeren Sauerstoffverbrauch als die mit HTK-Lösung konservierten Nieren auf. Man könnte also auch annehmen, dass die Baeyer-2-Nieren bzgl. des Sauerstoffverbrauchs ökonomischer arbeiten.

6.2.5 Resorptionsfraktion Natrium

Die Resorptionsfraktion Natrium bezeichnet den prozentualen Anteil des reabsorbierten Natriums aus dem glomerulären Filtrat. Natrium wird in vivo zu 99 % rückresorbiert, nur 1% wird mit dem Harn ausgeschieden. Die Rückresorption ist ein energetisch aufwendiges Verfahren und steht daher in engem Zusammenhang mit dem Sauerstoffverbrauch. Der häufigste Antrieb dafür ist die Na-K-ATPase. Die Natriumrückresorption ist abhängig von der

Menge an Natriumionen im Ultrafiltrat. Die Rückresorption findet im Tubulussystem statt und gibt somit Auskunft über die tubuläre Funktion. Unterschiedlich große Anteile des Natriums werden in den verschiedenen Abschnitten des Tubulussystems rückresorbiert: Im proximalen Tubulus werden ca. 60-70 % rückresorbiert, in der Henleschen Schleife sind es 15-20% und 10-15% werden im distalen Tubulus zurückgewonnen (HARTMANN 1994). Die Werte in unseren Versuchen unterscheiden sich zwischen den Gruppen in nur geringem Maße und bewegen sich zwischen Medianwerten von 89-93% in allen drei Gruppen. Diese Werte knüpfen trotz vorangegangener Ischämie relativ nah an physiologische Werte an. Tendenziell ist ein leichter Anstieg der Werte während des Perfusionszeitraums erkennbar. Dies kann durch eine zunehmende Rekrutierung von Tubuli bedingt sein.

6.2.6 Tubulärer Natriumtransport

Laut UNGER (2007) liegt der Mittelwert des tubulären Natriumtransports lebender, gesunder Schweine bei 10,8 mmol/min*100 g. Höchste Werte, wenn auch nicht signifikant, werden in der Gruppe II erreicht. Die Werte bewegen sich zwischen 3,37 mmol/min * 100 g (nach 60 Perfusionsminuten) und 2,41 (nach 180 Perfusionsminuten). Der Zusatz von Iloprost zur HTK-Lösung verbessert, wenn auch nicht signifikant, die Ergebnisse der Gruppe III verglichen mit der Gruppe I. Nach 60 Perfusionsminuten liegt der Wert der Gruppe I bei 1,43 und in der Gruppe III bei 2,54 mmol/min * 100 g. Mit zunehmender Perfusionsdauer unterscheiden sich die Werte der beiden Gruppen weniger.

6.2.7 Diurese

Das Schwein produziert, abhängig von Fütterungs- und Haltungsbedingungen sowie physischen als psychischen Belastungen, ca. 0,014-0,06 ml/min/kg Körpergewicht Harn (KRAFT et al. 1999). Diese Angabe bezieht sich auf die Urinproduktion von zwei Nieren. UNGER und Mitarbeiter (2006, 2007) geben für lebende und gesunde Schweine eine Harnproduktion von 0,87 ml/min*100g NG an. In unseren Versuchen liegen die Werte der Gruppen III mit Iloprostzusatz am nächsten an den physiologischen Werten, wenngleich der Unterschied zu den geringfügig höheren Werten der Gruppe I nicht signifikant ist. In der Gruppe II (Werte zwischen 1,73 und 3,3 ml/min * 100 g NG) ist die höchste Urinproduktion zu verzeichnen. Sie unterscheidet sich nach 120 Perfusionsminuten signifikant von der Gruppe I (der Unterschied zur Gruppe III ist aufgrund eines Ausreißers in dieser Gruppe nicht signifikant). Die höheren Werte deuten auf eine Polyurie der Niere hin. In der Studie von FEHRENBURG und Mitarbeitern (2004) betrug nach 60 Perfusionsminuten die Urinproduktion der mit Baeyer-2-Lösung konservierten Nieren $2,7 \pm 0,6$ ml/min/100g NG und der mit HTK-Lösung konservierten Nieren $1,9 \pm 0,7$ ml/min/100g NG. Wir erreichten Medianwerte von 2,8 ml/min/100g NG in der Gruppe II und 1,35 ml/min/100g NG in der Gruppe I. Unsere Ergebnisse sind ähnlich,

obwohl in der genannten Studie die Bedingungen der Perfusion ungünstiger waren: Die warme Ischämie lag bei 16,7 min, welche bei uns aufgrund der unter Narkose durchgeführten Organentnahme und der in situ Konservierung nahezu entfiel. Des Weiteren betrug die kalte Ischämie unserer Nieren nur 2 Stunden statt 5,2 Stunden.

Eine mangelnde Harnkonzentrierung bzw. Wasserdiurese aller Nieren ist sicherlich auch auf das Fehlen von ADH zurückzuführen. ADH wird im Hypothalamus produziert und in der Hypophyse bis zur Ausschüttung gespeichert. Durch den Feedbackmechanismus kommt es zur ADH-Ausschüttung. Die Rückresorption von Wasser, durch ADH stimuliert, entfällt somit für die isoliert perfundierte, denervierte Niere. Laut NAVAR (1978) ist eine renale Autoregulation durch einen negativen Feedbackmechanismus mit Beteiligung der Zellen der Macula densa und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, bei dem im distalen Nephron die NaCl-Konzentration im Blut gemessen wird und so eine kalziumvermittelte Regulation des Gefäßtonus in den afferenten Arteriolen in Gang gesetzt wird, möglich.

Ein weiterer zur Diurese führender Faktor ist die in unserem Modell für die Perfusion durchgeführte Dilution des Blutes. Den durch Urinproduktion verursachten Flüssigkeitsverlust haben wir durch Zufuhr physiologischer Elektrolytlösung zum Blut ausgeglichen. Der effektive Filtrationsdruck resultiert aus der Differenz zwischen Perfusionsdruck und kolloid-osmotischem Druck in den glomerulären Kapillaren (HARTMANN 1994). Letzterer ist bei entsprechender Wasserverdünnung des Perfusionsmediums niedriger als unter normalen Umständen, was den effektiven Filtrationsdruck anhebt und so zu einer vermehrten Filtration und Diurese führt.

6.2.8 Kreatinin, Urin/Plasma-Relation

Kreatinin wird im Glomerulum frei filtriert, nahezu nicht sezerniert oder resorbiert. Das Volumen des Primärharns wird im Tubulussystem um ca. 90% verringert. Eine mangelnde Funktionalität des Tubulussystems zieht eine reduzierte Wasserresorption nach. Folglich wird auch das Kreatinin des Primärharns weniger konzentriert und der Quotient aus U/P wird kleiner. Beim akuten Nierenversagen ist der Quotient < 14 (HARTMANN 1994). Ischämisch geschädigte Tubuluszellen dürften auch in unseren Versuchen ursächlich für erniedrigte Quotienten eine Rolle spielen. Jedoch ist in allen drei Gruppen ein Anstieg des Quotienten mit zunehmender Perfusionsdauer zu erkennen, was vermutlich auf Rekrutierung und Regeneration der Tubuluszellen zurückzuführen ist.

6.2.9 Proteinkonzentration, Urin/Plasma-Relation

Ist die Barrierefunktion in den Glomerula gestört, können höhermolekulare Stoffe, wie Proteine, in erhöhtem Maße in den Primärharn gelangen (HARTMANN 1994). Wird dann die Rückresorptionskapazität des Tubulussystems für Proteine (Pinozytose) überschritten,

gehen vermehrt Proteine im Endharn verloren (HIERHOLZER und FROMM 1997). Ein Proteingehalt von 300-500 mg/l im Endharn wird für das Schwein als physiologisch angesehen (WALDMANN und WENDT 1991). Nach 120 Minuten schneidet hier zwar die Gruppe II signifikant besser ab als die anderen beiden Gruppen. Jedoch wird in allen drei Gruppen deutlich mehr Protein ausgeschieden als physiologischerweise zu erwarten wäre. Ursächlich kommen hypoxisch geschädigte Tubuluszellen, die nekrotisch werden und zu einer erhöhten Proteinfreisetzung führen, in Frage. Des Weiteren könnten ischämiebedingte Schädigungen des Glomerulums die Durchlässigkeit für Proteine erhöht haben.

6.3 Schlussfolgerung

Betrachtet man die Parameter Blutfluss und Organwiderstand, so lässt sich durch die Zugabe von Iloprost eine signifikante Verbesserung der Konservierungsleistung der Gruppe III im Vergleich zur Gruppe I feststellen. Die HTK-Lösung wird mit Iloprostzusatz gleichwertig zur Baeyer-2-Lösung, während sie ohne Iloprost signifikant schlechtere Ergebnisse erbringt. Im Bereich der funktionellen Parameter weist die Gruppe III einen signifikant höheren Sauerstoffverbrauch als die anderen beiden Gruppen auf. Im Zusammenhang mit einer gesteigerten Natriumtransportleistung könnte dies als verbesserter Funktionsparameter gewertet werden. Der tubuläre Natriumtransport ist zwar in Gruppe III höher als in Gruppe I, dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant, sodass eine verbesserte Funktionalität nicht sicher nachweisbar ist. Auch im Bereich anderer funktioneller Parameter führt der Zusatz von Iloprost teilweise zur Verbesserung der Werte im Vergleich zur herkömmlichen HTK-Lösung, diese Unterschiede sind jedoch nicht signifikant. Insgesamt verbessert die Zugabe von Iloprost die Konservierungsleistung der HTK-Lösung zumindest teilweise, so dass diese v.a. im Bereich der Hämodynamik vergleichbar mit der Baeyer-2-Lösung wird. Jedoch kann auch die Baeyer-2-Lösung in der vorliegenden Arbeit nicht in allen Bereichen an die signifikant bessere Konservierungsleistung im Vergleich zur HTK-Lösung, wie in der Arbeit von Fehrenberg et al. (2004) demonstriert, anknüpfen.

Im Rahmen der Verbesserung des Modells der isoliert hämoperfunden Schweineniere, auch in ihrer Rolle als Tierversuchersatzmethode durch Verwendung von Schlachthofnieren, wäre ein weiterer möglicher Untersuchungsansatz die Zugabe von Iloprost zum Perfusionsmedium Blut.

In Hinblick auf den in Zukunft möglicherweise routinemäßigen Einsatz von Perfusionsystemen wie dem Transmedics Organ Care System könnte im Bereich der Transplantationsmedizin und der experimentellen isolierten Organperfusion evtl. eine gewisse Unabhängigkeit von Konservierungslösungen erreicht werden.

7 ZUSAMMENFASSUNG

Die Zusammensetzung der Organkonservierungslösung hat einen wesentlichen Einfluss auf die funktionelle Güte des zu transplantierenden Organs. In der vorliegenden Arbeit wurde daher der Einfluss von Iloprost, eines Prostazyklinanalogons mit vasodilatatorischen, thrombozytenaggregationshemmenden und profibrinolytischen Eigenschaften, als Zusatz zu einer herkömmlichen Konservierungslösung auf die Nierenfunktion untersucht. Hierfür wurde das Modell der isoliert hämoperfundenen Schweineniere nach v. Baeyer und Große-Siestrup verwendet. 18 Nieren von deutschen Landschweinen wurden über zwei Stunden hypotherm konserviert und anschließend mit autologem Blut perfundiert. Für die hypotherme Konservierung wurden drei verschiedene Konservierungslösungen verwendet: HTK-Lösung (Gruppe I), Baeyer-2-Lösung (Gruppe II) und HTK-Lösung mit Zusatz von Iloprost (Gruppe III). An jeweils 6 Nieren pro Gruppe wurde eine 180-minütige Perfusion durchgeführt, wobei alle 30 Minuten Blut- und Urinproben für die Bestimmung folgender Parameter zur Beurteilung der Nierenfunktion entnommen wurden: Natrium, Blutgase, Hb-Wert, Kreatinin, Glukose, Totalprotein, Osmolalität. Der Blutdruck und die Flussraten von Blut und Dialysat wurden protokolliert. Errechnet wurden folgende Parameter: Organwiderstand, Kreatinin-Clearance, Resorptionsfraktion Natrium, Tubulärer Natriumtransport, Sauerstoffverbrauch, Diurese, Urin/ Plasma Relationen von Osmolalität, Protein, Kreatinin und Glukose. Für die statistische Auswertung wurden die Werte zu den Messzeitpunkten 60, 120 und 180 Minuten herangezogen.

Bei den Parametern der Hämodynamik schnitten die Nieren der Gruppen II und III signifikant besser ab als die der Gruppe I: Der Blutfluss lag nach dreistündiger Perfusion in der Gruppe II und III bei je 250 ml/min*100g, in der Gruppe I nur bei 136 ml/min*100g. Der Organwiderstand betrug nach diesem Zeitraum in Gruppe II 0,30 mmHg*min*100g/ml, in Gruppe III 0,35 mmHg*min*100g/ml und in Gruppe I 0,66 mmHg*min*100g/ml. Durch die Zugabe von Iloprost konnten also die Parameter der Hämodynamik der Nieren in Gruppe III signifikant verbessert werden im Vergleich zur Gruppe I, und waren somit gleichwertig zu den Ergebnissen in der Gruppe II.

Im Bereich der funktionellen Parameter fielen beim Sauerstoffverbrauch signifikante Unterschiede auf. Der Sauerstoffverbrauch lag in der Gruppe III zu den Messzeitpunkten 60, 120 und 180 Minuten signifikant höher als der in der Gruppe I, und nach 60 und 120 Minuten auch signifikant höher als der in der Gruppe II (Medianwerte nach 60/120/180 Minuten: Gruppe I 139/112/117, Gruppe II 103/98/82, Gruppe III 203/171/165 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$). Dies könnte für einen geringeren Verlust an funktionstüchtigen Nephronen und eine bessere

Nierenvitalität in Gruppe III sprechen. Zu erwarten wäre dann jedoch auch ein gesteigerter tubulärer Natriumtransport. Dieser lag zwar in der Gruppe III geringgradig über dem in der Gruppe I, jedoch waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen nachweisbar, sodass eine verbesserte Funktionalität nicht sicher nachzuweisen ist.

Die Zugabe von Iloprost führt zum Teil zu einer nachweisbaren Verbesserung der Konservierungsleistung der HTK-Lösung. Durch den Zusatz von Iloprost erscheint ihre Konservierungsleistung mit der der Baeyer-2-Lösung vergleichbar zu sein.

8 SUMMARY

Influence of three organ preservation solutions (HTK solution, Baeyer-2-solution, HTK solution with added iloprost) on the renal function in a model of isolated hemoperfused porcine kidney.

The composition of an organ preservation solution has a major influence on the functional quality of transplanted organs. Therefore in this study the influence of iloprost added to a common organ preservation solution on the renal function was examined. Iloprost, being an analogue of prostacyclin, has got vasodilatory and profibrinolytic effects and inhibits platelet aggregation. For this purpose a model of isolated hemoperfused porcine kidney established by v. Baeyer and Grosse-Siestrup was used. 18 kidneys of german landrace pigs were hypothermically preserved over a period of 2 hours after which they were perfused with autologous blood. Three different organ preservation solutions were used for the purpose of hypothermical preservation: HTK solution (group I), Baeyer-2-solution (group II) and HTK solution with added iloprost (group III). Each group contained 6 kidneys which were hemoperfused over a period of 180 minutes. Blood and urin samples were taken every 30 minutes to evaluate renal function using the following parameters: sodium, blood gases, hemoglobin, creatinine, glucose, total protein, osmolality. Blood pressure as well as flow rate of blood and dialysate were measured. The following parameters were then calculated: renal resistance, creatinine clearance, sodium reabsorption, tubular sodium transport, oxygen consumption, diuresis, ratios of urine / plasma osmolality, protein, creatinine and glucose. The values after 60, 120 and 180 minutes were used for statistical analysis.

Regarding hemodynamic parameters kidneys of group II and III performed significantly better than those of group I. Blood flow rate after 180 minutes perfusion was 250ml/min*100g in group II and III whereas group I showed 136 ml/min*100g. Renal resistance after 180 minutes perfusion was 0,30 mmHg*min*100g/ml in group II, 0,35 mmHg*min*100g/ml in group III and 0,66 mmHg*min*100g/ml in group I. Hence the addition of iloprost significantly improved renal hemodynamics in group III compared to group I and proved to be similar effective as group II.

Concerning functional parameters oxygen consumption stood out showing significant differences. Oxygen consumption in group III was significantly higher at all measurements compared to group I as well as after 60 and 120 minutes compared to group II (medians after 60/120/180 minutes: group I 139/112/117, group II 103/98/82, group III 203/171/165 $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$). A possible reason could be less damage of functional nephrons and therefore better renal vitality in group III. Accordingly one would expect an increased tubular so-

dium transport which was the case in group III compared to group I. However, no significant differences were apparent among the three groups. Therefore an improved functionality could not be proven.

Adding iloprost to HTK solution improves the preservation quality to some extent and seems to be similar effective as Baeyer-2-solution.

9 LITERATURVERZEICHNIS

AMES, B. N., J. MCCANN und E. YAMASAKI (1975):

Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test
Mutat. Res. 31 (6): 347-364

ARNER, M. und E. D. HOGESTATT (1991):

Endothelium-dependent relaxation and effects of prostacyclin, endothelin and platelet-activating factor in human hand veins and arteries
Acta. Physiol. Scand. 142 (2): 165-172

BAGUL, A., S. A. HOSGOOD, M. KAUSHIK, M. D. KAY, H. L. WALLER und M. L. NICHOLSON (2008):

Experimental renal preservation by normothermic resuscitation perfusion with autologous blood
Br. J. Surg. 95 (1): 111-118

BALDAN, N., M. TOFFANO, R. CADROBBI, L. CODELLO, F. CALABRESE, L. BACCILLE und P. RIGOTTI (1997):

Kidney preservation in pigs using celsior, a new organ preservation solution
Transplant. Proc. 29 (8): 3539-3540

BARUN, S., M. ÖZAT, T. GÜNGÖR, B. DEMIROGULLARI, L. K. SÖKMENSÜER, F. N. AKSAKAL, U. ERCIN, Ö. GÜHLBAHAI und S. MÜFTÜOĞLU (2011):

The use of a prostacyclin analog, iloprost, as an adjunct to uterus preservation with histidine-tryptophan-ketoglutarate solution
Transplant. Proc. 43 (5): 1998-2003

BATTISTELLI, S., T. BORGOGNI, S. GORI und G. MANASSE (1995):

Behavior of endothelin plasma levels during iloprost infusion in patients with severe ischemia in the lower extremities
Minerva Cardioangiol. 43 (6): 257-262

BELCH, J. J. (1986):

Effect of iloprost on white cell behaviour

In: R. J. GRYGLEWSKI und G. STOCK (Hrsg.): Prostacyclin and Its Stable Analogue Iloprost, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg: 97-102

BENNETT, M., S. HORTON, C. THUYS, S. AUGUSTIN, M. ROSENBERG und C. BRIZARD (2004):

Pump-induced haemolysis: a comparison of short-term ventricular assist devices
Perfusion 19 (2): 107-111

BJORNSON, J. (1978):

Thrombus formation in the artificial kidney. Platelet and fibrin(ogen) content of experimental thrombi detected by radioisotope technique

Scand. J. Urol. Nephrol. 12 (3): 251-257

BOCK, H. A. (1998):
Pathogenesis of acute renal failure: new aspects
Contrib. Nephrol. 124:43-55

BOOSTER, M. H., R. M. WIJNEN, M. YIN, A. T. TIEBOSCH, E. HEINEMAN, J. G. MAESSEN, W. A. BUURMAN, H. A. KURVERS, B. M. STUBENITSKY und H. BONKE (1993):
Enhanced resistance to the effects of normothermic ischemia in kidneys using pulsatile machine perfusion
Transplant. Proc. 25 (6): 3006-3011

BRAUN, M. und M. KIETZMANN (2004):
Ischemia reperfusion injury in the isolated hemoperfused bovine uterus - a model for the investigation of anti-inflammatory substances?
ALTEX 21 (Suppl 3): 49-56

BREIMER, M. E., C. T. SVALANDER, B. HARALDSSON und S. BJÖRCK (1996):
Physiological and Histological Characterisation of a Pig Kidney in-vitro Perfusion Model for Xenotransplantation Studies
Scand. J. Urol. Nephrol. 30 (3): 213-221

BRETSCHNEIDER, H. (1980):
Myocardial Protection
Thorac. cardiovasc. Surgeon 28 (5): 295-302

BREZIS, M., S. ROSEN und F. H. EPSTEIN (1991):
Acute renal failure
In: B. M. BRENNER und F. C. RECTOR (Hrsg.): The kidney, 4 Aufl., W.B.Saunders, Philadelphia: 993-1061

BREZIS, M., S. ROSEN, P. SILVA und F. H. EPSTEIN (1984):
Selective vulnerability of the medullary thick ascending limb to anoxia in the isolated perfused rat kidney
J. Clin. Invest. 73 (1): 182-190

BRUNE, K. (2004):
Replacement and refinement of animal experimentation in drug research has been and will be a permanent and necessary process
ALTEX 21 (1): 38-41

BUCHHOLZ, B. (1990):
Mechanisch ausgelöste Hämolyse im extrakorporalen Kreislauf der Hämodialyse
FH Lübeck, Diplomarbeit Biomedizin

CHANGANI, K. K., B. J. FULLER, J. D. BELL, S. D. TAYLOR-ROBINSON, D. P. MOORE und B. R. DAVIDSON (1999):
Improved preservation solutions for organ storage: a dynamic study of hepatic metabolism.
Transplantation 68 (3): 345-355

- COSSINS, A. R. und R. V. KILBEY (1990):
The temperature dependence of the adrenergic Na⁺/H⁺ exchanger of trout erythrocytes
J. Exp. Biol. 148 (1): 303-312
- COWGILL, L. D. und T. FRANCEY (2005):
Acute Uremia
In: S. J. ETTINGER und E. C. FELDMANN (Hrsg.): Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat, 6. Aufl., W.B. Saunders, Philadelphia: 1731-1756
- CZYMEK, R., D. DINTER, S. LOEFFLER, M. GEBHARD, T. LAUBERT, A. LUBIENSKI, H. BRUCH und A. SCHMIDT (2011):
Electrochemical treatment: An investigation of dose-response relationships using an isolated liver perfusion model
Saudi. J. Gastroenterol. 17 (5): 335-342
- DE BOER, J., J. M. SMITS, J. DE MEESTER, A. VAN DER VELDE, A. BOK, G. G. PERSIJN und B. RINGE (1999):
A randomized multicenter study on kidney preservation comparing HTK with UW Transplant. Proc. 31 (5): 2065-2066
- DE MELLO, G. und T. MAACK (1976):
Nephron function of the isolated perfused rat kidney
Am. J. Physiol. 231 (6): 1699-1707
- DEETJEN, P. und K. KRAMER (1961):
The relation of O₂ consumption by the kidney to Na re-resorption.
Pflügers Arch. Europ. J. Physiol. 273 (6): 636-650
- DEL CANIZO, J. F., A. TEJEDOR, E. LLEDO, J. RADVAN, M. DESCO, E. DULIN, O. HOLBERNDT, C. HERNANDEZ und P. GARCIA-BARRENO (1998):
Isolated kidney controlled perfusion with true physiological pulsatile waveform
Artif. Organs 22 (4): 279-284
- DIBBLE, J. B., P. A. KALRA, M. A. ORCHARD, J. H. TURNEY und J. A. DAVIS (1988):
Prostacyclin and iloprost do not affect action of standard dose heparin on haemostatic function during haemodialysis
Thromb. Res. 49 (4): 385-392
- DITTRICH, S., D. A. GRONEBERG, J. VON LOEPER, F. LIPPEK, O. HEGEMANN, C. GROSSE-SIESTRUP und P. E. LANGE (2004):
Influence of cold storage on renal ischemia reperfusion injury after non-heart-beating donor explantation
Nephron Exp. Nephrol. 96 (3): e97-102
- DREIKORN, K., R. HORSCH und L. ROHL (1980):
48- to 96-hour preservation of canine kidneys by initial perfusion and hypothermic storage using the Euro-Collins solution

Eur. Urol. 6 (4): 221-224

EIGLER, F. W. (2002):
The history of kidney transplantation in Germany
Zentralbl. Chir. 127 (11): 1001-1008

FEHRENBURG, C., H. VON BAEYER, V. UNGER, R. SCHMITT, W. HAIDER, D. QUARCOO, D. A. GRONEBERG und C. GROSSE-SIESTRUP (2004):
Protective effects of B2 preservation solution in comparison to a standard solution (histidine-tryptophan-ketoglutarate/Bretschneider) in a model of isolated autologous hemoperfused porcine kidney
Nephron Physiol. 96 (2): 52-58

FISHER, C. A., J. R. KAPPA, A. K. SINHA, E. D. COTRELL, H. J. REISER und V. P. ADDONIZIO (1987):
Comparison of equimolar concentrations of iloprost, prostacyclin, and prostaglandin E1 on human platelet function
J. Lab. Clin. Med. 109 (2): 184-190

FORTH, H. J., U. REBMANN, H. HEYNEMANN, J. SCHABEL, H. D. PAUER, G. MEHLHORN, R. SCHARF und H. J. MEST (1990):
The improvement of the tolerance of the kidney for ischemia with the prostacyclin analog iloprost
Z. Exp. Chir. Transplant. Kuenstliche Organe 23 (2): 79-82

FRESHNEY, R. I. (1990):
Tierische Zellkulturen, de Gruyter, Berlin; New York

GALLINAT, A., C. MOERS, J. TRECKMANN, J. M. SMITS, H. G. LEUVENINK, R. LEFERING, E. VAN HEURN, G. R. KIRSTE, J. P. SQUIFFLET, A. RAHMEL, J. PIRENNE und A. PAUL (2012):
Machine perfusion versus cold storage for the preservation of kidneys from donors ≥ 65 years allocated in the Eurotransplant Senior Programme
Nephrol. Dial. Transplant. 26 (Epub ahead of print)

GRANT, S. M. und K. L. GOA (1992):
Iloprost. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peripheral vascular disease, myocardial ischaemia and extra-corporeal circulation procedures.
Drugs 43 (6): 889-924

GRAUER, G. F. (2006):
Akutes Nierenversagen
In: R. W. NELSON und C. G. COUTO (Hrsg.): Innere Medizin der Kleintiere, 1 Aufl., Elsevier, München, Jena: 648-663

GROSSE-SIESTRUP, C., C. FEHRENBURG, H. VON BAEYER und D. A. GRONEBERG (2002a):
Multiple-organ harvesting for models of isolated hemoperfused organs of slaughtered pigs

ALTEX. 19 (1): 9-13

GROSSE-SIESTRUP, C., S. NAGEL, V. UNGER, M. MEISSLER, J. PFEFFER, A. FISCHER und D. A. GRONEBERG (2001):

The isolated perfused liver. A new model using autologous blood and porcine slaughterhouse organs

J. Pharmacol. Toxicol. Methods 46 (3): 163-168

GROSSE-SIESTRUP, C., J. PFEFFER, V. UNGER, S. NAGEL, C. WITT, A. FISCHER und D. A. GRONEBERG (2002b):

Isolated hemoperfused slaughterhouse livers as a valid model to study hepatotoxicity
Toxicol. Pathol. 30 (6): 749-754

GROSSE-SIESTRUP, C., V. UNGER, C. FEHRENBURG, H. BAEYER, A. FISCHER, F. SCHAPER und D. A. GRONEBERG (2002c):

A model of isolated autologously hemoperfused porcine slaughterhouse kidneys
Nephron 92 (2): 414-421

GROSSE-SIESTRUP, C., V. UNGER, M. MEISSLER, S. NAGEL, A. WUSSOW, C. PEISER, A. FISCHER, R. SCHMITT und D. A. GRONEBERG (2003):

Hemoperfused isolated porcine slaughterhouse kidneys as a valid model for pharmacological studies

J. Pharm. Sci. 92 (6): 1147-1154

GROSSE-SIESTRUP, C., P. M. WIEMER, T. C. FISCHER, C. FEHRENBURG, V. UNGER, A. FISCHER und D. A. GRONEBERG (2002d):

Isolated hemoperfused porcine skin as a valid model to assess percutaneous absorption

J. Invest. Dermatol. 119 (1): 197-199

GRUNE, B., S. HERRMANN, A. DORENDAHL, S. SKOLIK, S. BEHNCK-KNOBLAU, R. BOX und H. SPIELMANN (2000):

The ZEBET database on alternative methods to animal experiments in the Internet - a concrete contribution to the protection of animals

ALTEX 17 (3): 127-133

HÄCKER, A., S. CHAUHAN und K. PETERS (2005):

Multiple high-intensity focussed ultrasound probes for kidney-tissue ablation

J. Endourol. 19 (8): 1036-1040

HÄCKER, A., F. RISSE und K. PETERS (2006):

Magnetic resonance imaging for assessment of radiofrequency lesions in kidney tissue immediately after ablation: an experimental study

J. Endourol. 20 (5): 312-317

HARTMANN, H. (1994):

Funktionsstörungen der Nieren und ableitenden Harnwege

In: H. HARTMANN und H. MEYER (Hrsg.): Klinische Pathologie der Haustiere, Gustav Fischer Verlag Jena: 412-432

- HAUET, T., D. MOTHEs, J. GOUJON, T. GERMONVILLE, J. C. CARITEZ, M. CARRETIER, M. EUGENE und J. TILLEMENT (1998):
Trimetazidine reverses deleterious effects of ischemia-reperfusion in the isolated perfused pig kidney model
Nephron 80 (3): 296-304
- HELOU, C. M. B., A. C. SEGURO und A. S. ROCHA (1993):
Evaluation of human kidney viability during cold storage
Ren. Fail. 15 (1): 85-91
- HEYNEMANN, H., U. REBMANN, J. SCHABEL, B. LANGKOPF, H. D. PAUER, R. SCHARF und U. COBET (1986):
Hemodynamic studies of iloprost-conditioned ischemically stressed kidneys in animal experiments
Z. Urol. Nephrol. 79 (6): 329-334
- HIERHOLZER, K. und M. FROMM (1997):
Funktionen der Niere
In: R. F. SCHMIDT und G. THEWS (Hrsg.): Physiologie des Menschen, 27 Aufl., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 737-776
- HOECHEL, J., D. LEHMANN, C. FEHRENBURG, V. UNGER, D. A. GRONEBERG und C. GROSSE-SIESTRUP (2003):
Effects of different perfusates on functional parameters of isolated perfused dog kidneys
Nephrol. Dial. Transplant. 18 (9): 1748-1754
- HOSGOOD, S. A., B. YANG, A. BAGUL, I. H. MOHAMED und M. L. NICHOLSON (2010):
A comparison of hypothermic machine perfusion versus static cold storage in an experimental model of renal ischemia reperfusion injury
Transplantation 89 (7): 830-837
- HRABALOVA, M., P. BACHLEDA, L. LUBUSKA, Z. KOJECKY, J. ZADRAZIL, K. KREJCI und J. S. AL (2003):
Effect of various protective solutions on function after kidney transplantation
Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc. Czech. Repub. 147 (2): 197-202
- ISSELHARD, W. (1986):
Organkonservierung: Grundlagen, Entwicklung, Perspektiven.
In: F. W. EIGLER und H. J. PEIPER (Hrsg.): Stand und Gegenstand chirurgischer Forschung, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 171-187
- ITO, S., T. MATSUDA, Y. TAKEMOTO, K. YAMAMOTO, T. KISHIMOTO und M. MAEKAWA (1992):
Peptidyl antithrombogenic agents for extracorporeal blood circulation
Int. J. Artif. Organs 15 (12): 737-745
- JOANNIDIS, M. (2008) zitiert am 18.03.08:
Das akute Nierenversagen

URL: http://www.intensiv-innsbruck.at/education/nierenversagen_joannidis.htm

JOCHMANS, I., C. MOERS, J. M. SMITS, H. G. LEUVENINK, J. TRECKMANN, A. PAUL, A. RAHMEL, J. P. SQUIFFLET, E. VAN HEURN, D. MONBALIU, R. J. PLOEG und J. PIRENNE (2010):

Machine perfusion versus cold storage for the preservation of kidneys donated after cardiac death: a multicenter, randomized, controlled trial
Ann. Surg. 252 (5): 756-764

KARLSON, P., D. DOENECKE und J. KOOLMANN (1994):
Hormone

In: P. KARLSON (Hrsg.): Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler, 14. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 417-467

KIETZMANN, M., W. LOSCHER, D. ARENS, P. MAASS und D. LUBACH (1993):

The isolated perfused bovine udder as an in vitro model of percutaneous drug absorption. Skin viability and percutaneous absorption of dexamethasone, benzoyl peroxide, and etofenamate

J. Pharmacol. Toxicol. Methods 30 (2): 75-84

KOLAR, R. (2006):

Animal experimentation

Sci. Eng. Ethics 12 (1): 111-122

KOLB, E. (1989):

Die Physiologie der Niere

In: E. KOLB (Hrsg.): Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, 5. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York: 555-581

KRAFT, W., U. M. DÜRR, M. FÜRLL, H. BOSTEDT und K. HEINRITZI (1999):

Harnapparat

In: W. KRAFT und U. M. DÜRR (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 5 Aufl., Schattauer Verlag, Stuttgart, New York: 169-200

KRAUSE, W. und T. KRAIS (1986):

Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the prostacyclin analogue iloprost in man

Eur. J. Clin. Pharmacol. 30 (1): 61-68

KRAUSE, W. und T. KRAIS (1987):

Pharmacokinetics and pharmacodynamics of radio-labeled iloprost in elderly volunteers.

Eur. J. Clin. Pharmacol. 32 (6): 597-605

KRUEGER, U., H. SCHOLZ, M. HEISE, P. ADEBERG, M. PETZOLD, J. ZANOW und R. KARRENBERG (2000):

Effect of intravenous Iloprost and Alprostadil (PGE1) on peripheral resistance during femoro-distal reconstructions

Int. Angiol. 19 (4): 358-365

- L'AZOU, B., J. MEDINA, W. FRIEAUFF, A. CORDIER, J. CAMBAR und A. WOLF (1999):
In vitro models to study mechanisms involved in cyclosporine A-mediated glomerular contraction
Arch. Toxicol. 73 (6): 337-345
- LANGKOPF, B., U. REBMANN, J. SCHABEL, H. D. PAUER, H. HEYNEMANN und W. FORSTER (1986):
Improvement in the preservation of ischemically impaired renal transplants of pigs by iloprost (ZK 36 374)
Prostaglandins Leukot. Med. 21 (1): 23-28
- LIEBERTHAL, W., E. F. WOLF, H. G. RENNKE, C. R. VALERI und N. G. LEVINSKY (1989):
Renal ischemia and reperfusion impair endothelium-dependent vascular relaxation
Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 256 (5): F894-F900
- LINDL, T. (2002):
Zell- und Gewebekultur
5. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; Berlin
- LLEDO, G. E., F. C. HERNANDEZ, A. C. LLORENTE und J. F. CANIZO LOPEZ (2002):
[Hydrodynamic and biochemical effects of hypothermic perfusion of isolated kidney according to the type of pump]
Actas Urol. Esp. 26 (3): 182-189
- LOKKEGARD, H. (1972):
Further experiences with kidney preservation for 24 hours using continuous hypothermic perfusion. Renal clearances in pigs with autotransplanted preserved kidneys.
Acta med. scand. (3): 191-198
- LYNCH, R. J., J. KUBUS, R. H. CHENAULT, S. J. PELLETIER, D. A. CAMPBELL und M. J. ENGLESEBE (2008):
Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate and University of Wisconsin preservation in renal transplantation
Am. J. Transplant. 8 (3): 567-573
- MAACK, T. (1980):
Physiological evaluation of the isolated perfused rat kidney
Am. J. Physiol. 238 (2): F71-F78
- MAAS, J. und G. GROSS (1996):
Tierversuche und in-vitro Techniken in Pharmakokinetik und Metabolismus
Der Tierschutzbeauftragte 1 (1): 33-39
- MENGER, M. D., D. STEINER und K. MESSMER (1992):
Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "no reflow"
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 263 (6): H1892-H1900

- MESSMER, K. (1994):
Schock
In: W. SIEGENTHALER (Hrsg.): Klinische Pathophysiologie, 7 Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 552-553
- MODERSOHN, D., C. GROSSE-SIESTRUP, C. LIU und W. KONERTZ (1997):
Evaluation of regional and global heart function and heart metabolism in hemoperfused swine hearts
Biomed. Tech. (Berl.) 42 Suppl393-394
- MOERS, C., J. M. SMITS, M. H. MAATHUIS, J. TRECKMANN, F. VAN GELDER, B. P. NAPIERALSKI, M. KASTEROP-KUTZ, J. J. VAN DER HEIDE, J. P. SQUIFFLET, E. VAN HEURN, G. R. KIRSTE, A. RAHMEL, H. G. LEUVENINK, A. PAUL, J. PIRENNE und R. J. PLOEG (2009):
Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation
N. Engl. J. Med. 360 (1): 7-19
- MUHLBACHER, F., F. LANGER und C. MITTERMAYER (1999):
Preservation solutions for transplantation
Transplant. Proc. 31 (5): 2069-2070
- MYERS, B. D., B. J. CARRIE, R. R. YEE, M. HILBERMAN und A. S. MICHAELS (1980):
Pathophysiology of hemodynamically mediated acute renal failure in man
Kidney Int. 18 (4): 495-504
- NAGEL, S., O. HEGEMANN, D. A. GRONEBERG und C. GROSSE-SIESTRUP (2005):
An improved model of isolated hemoperfused porcine livers using pneumatically driven pulsating blood pumps
Toxicol. Pathol. 33 (4): 434-440
- NAVAR, L. G. (1978):
Renal autoregulation: perspectives from whole kidney and single nephron studies
Am. J. Physiol. 234 (5): F357-F370
- NEEW-GALUSCHKA, E., K. STAHL, C. FEHRENBURG und G. KACZMARCZYK (1998):
Pathophysiology of the isolated blood-perfused porcine kidney - a better understanding of the Renin-Angiotensin-System
37th Scientific Meeting (GV-SOLAS), Society for Laboratory Animal Science, Seminar on Isolated Perfused Organs
- NEUMAYER, H. H. (1997):
Akutes Nierenversagen
In: H. E. FRANZ und W. H. HÖRL (Hrsg.): Blutreinigungsverfahren - Technik und Klinik, 5 Aufl., Georg Thieme, Stuttgart, New York: 520-541
- O'CALLAGHAN, J. M., S. R. KNIGHT, R. D. MORGAN und P. J. MORRIS (2012):

Preservation solutions for static cold storage of kidney allografts: a systematic review and meta-analysis

Am. J. Transplant. 12 (4): 896-906

OTTO, A. M., M. BRISCHWEIN, E. MOTRESCU, E. CABALA, H. GROTHE, C. STEPPER und B. WOLF (2004):

Chips instead of mice: cells on bioelectronic sensor-chips as an alternative to animal experiments

ALTEX. 21 Suppl 370-76

PEREZ DE LEMA, G., I. ARRIBAS, A. PRIETO, T. PARRA, G. DE ARRIBA, D. RODRIGUEZ-PUYOL und M. RODRIGUEZ-PUYOL (1998):

Cyclosporin A-induced hydrogen peroxide synthesis by cultured human mesangial cells is blocked by exogenous antioxidants

Life Sci. 62 (19): 1745-1753

PETERS, K., M. MICHEL, U. MATIS und A. HÄCKER (2006):

Das Modell der isolierten perfundierten Schweineniere zur Erforschung chirurgischer Therapieverfahren

ALTEX 23 (3): 203-207

PHILP, J. L., M. Y. JAFFRIN und L. H. DING (1993):

Hemolysis reduction in plasmapheresis by module design: Operating with pulsed flow filtration enhancement

Int. J. Artif. Organs 16 (2): 100-107

PIBIRI, L., P. PETRUZZO, D. ANGIUS, G. RUIU, F. POLO, A. RESCIGNO und G. BROTZU (1997):

A new infusion method for a prostacyclin analogue

Minerva Cardioangiol. 45 (12): 621-625

REBMANN, U., A. FAHR, C. WACHSMUTH, W. SZIEGOLEIT, J. SCHABEL, H. HEYNEMANN, H. D. PAUER, H. J. MEST, B. LANGKOPF und W. FORSTER (1986):

Effect of iloprost on aggregation behavior in kidney conditioning and changes in iloprost concentration in kidney preservation

Z. Urol. Nephrol. 79 (12): 733-738

REBMANN, U., B. LANGKOPF, K. PASCHOLD, J. SCHABEL, H. D. PAUER und H. HEYNEMANN (1989):

Die Verlängerung der Lagerungskonservierung von Schweinenieren auf 96 Stunden durch Einsatz von Iloprost

Aktuel. Urol. 20 (6): 307-312

REBMANN, U., B. LANGKOPF, H. D. PAUER, J. SCHABEL, H. HEYNEMANN und W. FORSTER (1987):

Effect of Iloprost (ZK 36 374) on hemodynamic parameters during kidney donor conditioning in animal experiments

Z. Exp. Chir. Transplant. Kuenstliche Organe 20 (5): 264-268

- REBMANN, U., B. LANGKOPF, I. SCHABEL, H. D. PAUER, H. HEYNEMANN und W. FORSTER (1985):
Extended storage preservation of swine kidneys to 72 hours using iloprost
Z. Urol. Nephrol. 78 (11): 611-617
- RESCH, K. (1988):
Können Zellkulturen auch komplexe Organe ersetzen?
In: K. F. SEWING (Hrsg.): Zum Ersatz von Tierversuchen, Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover
- RINGOIR, S. und R. VANHOLDER (1986):
An introduction to biocompatibility
Artif. Organs 10 (1): 20-27
- ROSENFELD, S., R. KRAUS und A. MCCULLEN (1965):
Effect of renin, ischemia, and plasma protein loading on the isolated perfused kidney
Am. J. Physiol. 209 (4): 835-843
- ROTE LISTE SERVICE GMBH (2012) zitiert am 26.08.12:
Iloprost
URL: http://www.rote-liste.de/Online/jsearch_stoffe?WIRKSTOFF
- SANCHEZ-URDAZPAL, L., G. J. GORES, D. M. FERGUSON und R. A. KROM (1991):
Improved liver preservation with addition of iloprost to Eurocollins and University of Wisconsin storage solutions
Transplantation 52 (6): 1105-1107
- SPIELMANN, H. (1996):
Alternativen in der Toxikologie
In: F. P. GRUBER und H. SPIELMANN (Hrsg.): Alternativen zu Tierexperimenten, Spektrum Akademischer Verlag, Berlin
- STEWART, Z. A., B. E. LONZE, D. S. WARREN, N. N. DAGHER, A. L. SINGER, R. A. MONTGOMERY und D. L. SEGEV (2009):
Histidine-Tryptophan-Ketoglutarat (HTK) is associated with reduced graft survival of deceased donor kidney transplants
Am. J. Transplant. 9:1048-1054
- STORCK, M., S. REICHEL, B. TECHT, A. SIRRSJO, F. KROMBACH, C. HAMMER und D. ABENDROTH (1996):
Effect of LFA-1 inhibition on immediate organ function in concordant ex-vivo hemoperfusion of primate kidneys
Transplant. Proc. 28 (2): 765-766
- SWINDLE, M. M., A. C. SMITH, K. LABER-LAIRD und L. DUNGAN (1994):
Swine in Biomedical Research: Management and Models
ILAR News 36 (1): 1-5
- SZINICZ, G., S. BELLER, W. BODNER, A. ZERZ und K. GLASER (1993):
Simulated operations by pulsatile organ-perfusion in minimally invasive surgery

Surg. Laparosc. Endosc. 3 (4): 315-317

TOLEDO-PEREYRA, L. H. (1988):

Kidney harvesting and preservation

In: L. H. TOLEDO-PEREYRA (Hrsg.): Kidney Transplantation, 1. Aufl., F.A. Davis Company, Philadelphia: 27-49

TRANSMEDICS (2009) zitiert am 25.08.09:

What are the benefits of the Transmedics Organ Care System?

URL: www.transmedics.com/wt/page/advantages

TRECKMANN, J., C. MOERS, J. M. SMITS, A. GALLINAT, M. H. MAATHUIS, M. VAN KASTEROP-KUTZ, I. JOCHMANS, J. J. HOMANN VON DER HEIDE, J. P. SQUIFFLET, E. VAN HEURN, G. R. KIRSTE, A. RAHMEL, H. G. LEUVENINK, J. PIRENNE, R. J. PLOEG und A. PAUL (2011):

Machine perfusion versus cold storage for preservation of kidneys from expanded criteria donors after brain death

Transplant Int. 24 (6): 548-554

TRITTHART, H. A. (1989):

What can we learn from cells? Cell cultures and their limits

In: F. LEMBECK (Hrsg.): Scientific Alternatives to Animal Experiments, 1. Aufl., E. Horwood, Chichester, West Sussex, England

TRUSHKOV, S., J. BICANS, V. SHEVELEV, J. JUSHINSKIS, V. SUHORUKOV und R. ROZENTAL (2003):

Use of HTK solution in kidney preservation

Transplant. Proc. 35 (2): 766

UNGER, V., C. GROSSE-SIESTRUP, C. FEHRENBURG, A. FISCHER, M. MEISSLER und D. A. GRONEBERG (2007):

Reference values and physiological characterization of a specific isolated pig kidney perfusion model

J. Occup. Med. Toxicol. 2 (1): 1-13

UNGER, V., C. GROSSE-SIESTRUP und D. A. GRONEBERG (2006):

Evaluation of renal functional parameters in different settings of isolated organ he-moperfusions

Physiol. Meas. 27 (11): 1167-1175

VANHERWEGHEM, J. L., J. DUCOBU, A. D'HOLLANDER und C. TOUSSAINT (1976):

Effects of hypercalcemia on water and sodium excretion by the isolated dog kidney

Pflugers Arch. 363 (1): 75-80

VANHOLDER, R. (1997):

New aspects of membrane-blood interaction

Int. J. Artif. Organs 20 (9): 491

VANROOIJ, J. G., E. VINKE, J. DE LANGE, P. L. BRUIJNZEEL, M. M. BODELIER-BADE, J. NOORDHOEK und F. J. JONGENEELLEN (1995):

Dermal absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons in the blood-perfused pig ear
J. Appl. Toxicol. 15 (3): 193-200

VEDANI, A. (1991):
Computer-Aided Drug Design: An Alternative to Animal Testing in the Pharmacological Screening
ALTEX 8 (1): 39-60

VON BAEYER, H., K. STAHL, M. HAEUSLER, M. MEISSLER, V. UNGER, J. FRANK, C. GROSSE-SIESTRUP, G. KACZMARCZYK, K. AFFELD, H.-J. FLAIG und B. STEINBACH (1997):
Eine neue Methode zur Ex-Vivo-Vollblut-Perfusion isolierter Warmblüterorgane, dargestellt an der Niere von Schweinen
Biomed. Technik 42 (3): 61-68

VON BAEYER, H., K. STAHL, A. HÄUSSLER, K. AFFELD und C. GROSSE-SIESTRUP (1993):
Ex vivo Organperfusion mit einem neuen Verfahren der Kombination von Gasaustausch in wässriger Phase und Dialyse
Proceedings, Treffpunkt Medizintechnik, Freie Universität Berlin, 14. /15. 10. 1993

WALDENBERGER, F. R., E. VANDEZANDE, P. JANSSENS, N. MORISHIGE, R. DEMEYERE, E. RYTER, A. WIEBALCK und W. FLAMENG (1997):
A new pneumatic pump for extracorporeal circulation: TPP (True pulsatile pump).
Experimental and first clinical results.
Int. J. Artif. Organs 20 (8): 447-454

WALDMANN, K. H. und M. WENDT (1991):
Kreatinin-clearance als Grundlage klinischer Nierenfunktionsbestimmung beim Schwein
Tierärztliche Praxis 19373-380

WATSON, C. J., A. C. WELLS, R. J. ROBERTS, J. A. AKOH, P. J. FRIEND, M. AKYOL, F. R. CALDER, J. E. ALLEN, M. N. JONES, D. COLLETT und J. A. BRADLEY (2010):
Cold machine perfusion versus static cold storage of kidneys donated after cardiac death: a UK multicenter randomized controlled trial
Am. J. Transplant. 10 (9): 1991-1999

10 ANHANG

10.1 Ergebnisse hämodynamischer und funktioneller Parameter

Tabelle 3: Blutfluss in ml/min*100 g

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 90,2671 | 103,7302 | 114,9277 |
| | Median | 100,1406 | 120,0467 | 136,2632 |
| | 75% Perzentil | 105,6805 | 124,4917 | 167,0389 |
| II | 25% Perzentil | 143,2698 | 142,6004 | 159,6293 |
| | Median | 210,8654 | 254,2414 | 251,9467 |
| | 75% Perzentil | 306,1458 | 324,3750 | 324,4688 |
| III | 25% Perzentil | 130,9028 | 145,1389 | 180,2083 |
| | Median | 150,9881 | 171,3462 | 249,8547 |
| | 75% Perzentil | 171,7683 | 250,3322 | 291,4678 |

Tabelle 4: Organwiderstand in mmHg*min*100g

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 0,8470 | 0,6969 | 0,5232 |
| | Median | 0,9086 | 0,7104 | 0,6582 |
| | 75% Perzentil | 1,1117 | 0,8906 | 0,7892 |
| II | 25% Perzentil | 0,3034 | 0,2781 | 0,2718 |
| | Median | 0,3477 | 0,3326 | 0,3011 |
| | 75% Perzentil | 0,5060 | 0,4411 | 0,4324 |
| III | 25% Perzentil | 0,4981 | 0,3442 | 0,2962 |
| | Median | 0,6057 | 0,5024 | 0,3499 |
| | 75% Perzentil | 0,7540 | 0,6053 | 0,4844 |

Tabelle 5: Kreatinin-Clearance in ml/min*100g

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 9,3145 | 6,2450 | 4,9538 |
| | Median | 10,9054 | 11,9839 | 11,0166 |
| | 75% Perzentil | 24,2421 | 22,5721 | 21,5489 |
| II | 25% Perzentil | 16,6514 | 15,9672 | 10,0769 |
| | Median | 28,0854 | 24,9981 | 20,4349 |
| | 75% Perzentil | 37,6691 | 29,7431 | 24,7747 |
| III | 25% Perzentil | 8,4928 | 5,7848 | 3,4597 |

| | | | | |
|--|---------------|---------|---------|---------|
| | Median | 19,1581 | 13,8707 | 10,2288 |
| | 75% Perzentil | 33,4409 | 24,7153 | 25,8979 |

Tabelle 6: Sauerstoffverbrauch in $\mu\text{mol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 96,0922 | 88,2359 | 77,8184 |
| | Median | 138,6594 | 111,6743 | 117,2756 |
| | 75% Perzentil | 164,2704 | 135,6624 | 132,7136 |
| II | 25% Perzentil | 72,5516 | 74,3585 | 54,0239 |
| | Median | 103,2137 | 97,5783 | 82,1410 |
| | 75% Perzentil | 117,0040 | 118,2703 | 135,5260 |
| III | 25% Perzentil | 171,5238 | 163,6329 | 151,1914 |
| | Median | 203,1530 | 170,7563 | 164,5007 |
| | 75% Perzentil | 220,1305 | 188,1328 | 171,1328 |

Tabelle 7: Filtrationsfraktion in %

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 10,2701 | 5,7608 | 3,9054 |
| | Median | 15,5540 | 14,8328 | 9,5986 |
| | 75% Perzentil | 28,1264 | 22,1155 | 18,5858 |
| II | 25% Perzentil | 12,2914 | 8,9865 | 6,0390 |
| | Median | 16,5763 | 12,6215 | 11,8595 |
| | 75% Perzentil | 23,5556 | 18,2741 | 13,0069 |
| III | 25% Perzentil | 5,9704 | 2,7828 | 1,9677 |
| | Median | 11,8790 | 8,1001 | 6,8582 |
| | 75% Perzentil | 32,3081 | 17,3677 | 10,8268 |

Tabelle 8: Tubulärer Natriumtransport in $\text{mmol}/\text{min} \cdot 100\text{g}$

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 1,1042 | 0,7457 | 0,6517 |
| | Median | 1,4296 | 1,5197 | 1,4081 |
| | 75% Perzentil | 3,1582 | 3,0467 | 2,9962 |
| II | 25% Perzentil | 2,0026 | 1,8153 | 1,1740 |
| | Median | 3,3691 | 3,1021 | 2,4118 |
| | 75% Perzentil | 4,7019 | 3,7417 | 3,1880 |
| III | 25% Perzentil | 1,0967 | 0,7948 | 0,4561 |
| | Median | 2,5444 | 1,8389 | 1,3960 |
| | 75% Perzentil | 4,4632 | 3,3264 | 3,6307 |

Tabelle 9: Resorptionsfraktion Natrium in %

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 84,6513 | 85,1380 | 89,2639 |
| | Median | 89,9864 | 91,9298 | 93,5446 |
| | 75% Perzentil | 95,3012 | 95,3996 | 96,5745 |
| II | 25% Perzentil | 88,9950 | 86,9527 | 82,0478 |
| | Median | 91,0394 | 90,8370 | 92,5265 |
| | 75% Perzentil | 94,2001 | 91,1957 | 94,1014 |
| III | 25% Perzentil | 81,0695 | 86,9043 | 89,9852 |
| | Median | 88,8342 | 90,9367 | 92,1726 |
| | 75% Perzentil | 94,6535 | 94,7617 | 97,6789 |

Tabelle 10: Diurese in ml/min*100g

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 1,0614 | 0,7295 | 0,4180 |
| | Median | 1,3549 | 1,3423 | 0,7795 |
| | 75% Perzentil | 2,5722 | 1,7036 | 1,5908 |
| II | 25% Perzentil | 1,3278 | 1,9233 | 0,9570 |
| | Median | 2,8015 | 3,2980 | 1,7287 |
| | 75% Perzentil | 5,8423 | 4,0454 | 3,6645 |
| III | 25% Perzentil | 1,0570 | 0,5093 | 0,2401 |
| | Median | 1,6613 | 1,1067 | 0,6706 |
| | 75% Perzentil | 3,8478 | 2,2007 | 1,6430 |

Tabelle 11: U/P Osmolalität

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 0,9281 | 1,0008 | 1,0416 |
| | Median | 1,0468 | 1,0957 | 1,0974 |
| | 75% Perzentil | 1,1769 | 1,1955 | 1,1482 |
| II | 25% Perzentil | 0,7630 | 0,7977 | 0,8580 |
| | Median | 1,0446 | 0,9928 | 0,9849 |
| | 75% Perzentil | 1,1994 | 1,1125 | 1,1034 |
| III | 25% Perzentil | 0,8640 | 1,0235 | 0,9661 |
| | Median | 1,0166 | 1,0968 | 1,0348 |
| | 75% Perzentil | 1,1509 | 1,2094 | 1,2062 |

Tabelle 12: U/P Kreatinin

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 5,3233 | 6,1389 | 8,0922 |
| | Median | 8,2155 | 10,9836 | 14,3886 |
| | 75% Perzentil | 17,6534 | 19,6004 | 22,9476 |
| II | 25% Perzentil | 6,0975 | 4,5304 | 4,3120 |
| | Median | 7,6271 | 7,9336 | 10,8914 |
| | 75% Perzentil | 15,3508 | 8,8829 | 11,9458 |
| III | 25% Perzentil | 4,4055 | 6,6925 | 8,0669 |
| | Median | 7,9846 | 9,8787 | 10,0417 |
| | 75% Perzentil | 16,0848 | 18,8027 | 37,7134 |

Tabelle 13: U/P Protein

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 0,0243 | 0,0112 | 0,0061 |
| | Median | 0,0314 | 0,0142 | 0,0125 |
| | 75% Perzentil | 0,0495 | 0,0391 | 0,0479 |
| II | 25% Perzentil | 0,0053 | 0,0045 | 0,0019 |
| | Median | 0,0136 | 0,0061 | 0,0062 |
| | 75% Perzentil | 0,0450 | 0,0129 | 0,0135 |
| III | 25% Perzentil | 0,0216 | 0,0108 | 0,0130 |
| | Median | 0,0498 | 0,0298 | 0,0427 |
| | 75% Perzentil | 0,0734 | 0,0717 | 0,1188 |

Tabelle 14: U/P Glukose

| Gruppe | | 60 Minuten | 120 Minuten | 180 Minuten |
|--------|---------------|------------|-------------|-------------|
| I | 25% Perzentil | 0,2798 | 0,1803 | 0,1291 |
| | Median | 0,4495 | 0,2878 | 0,2546 |
| | 75% Perzentil | 1,1881 | 0,6528 | 0,6034 |
| II | 25% Perzentil | 0,0861 | 0,1157 | 0,0966 |
| | Median | 0,3111 | 0,1522 | 0,1278 |
| | 75% Perzentil | 0,5078 | 0,1909 | 0,2152 |
| III | 25% Perzentil | 0,2198 | 0,1258 | 0,1753 |
| | Median | 0,4723 | 0,2581 | 0,3509 |
| | 75% Perzentil | 0,5936 | 0,6846 | 0,6182 |

10.2 Formeln

Organwiderstand in mmHg*min/ml: $R=(P_{art}-P_{ven})/Q_B$

Kreatinin-Clearance in ml/min: $Cl_{Krea}=(U_{Krea}/P_{Krea})\cdot VU$

Filtrationsfraktion in %: $Cl_{Krea}/[(Q_B\cdot(1-Hkt))\cdot 100]$

Sauerstoffverbrauch in $\mu\text{mol}/\text{min}$: $O_2\text{-Cons}=QB\cdot[(1,34/10000\cdot(Hb_{art}\cdot(SO_{art}-SO_{ven}))+0,024/760\cdot(PO_{art}-PO_{ven}))\cdot 1000/24]$

Tubulärer Natriumtransport in mmol/min: $T_{Na}=(P_{Na}\cdot Cl_{Krea})-(U_{Na}\cdot VU)$

Resorptionsfraktion Natrium in %: $RF_{Na}=1-[(U_{Na}/P_{Na})/(U_{Krea}/P_{Krea})]\cdot 100$

11 DANKSAGUNG

Herrn PD Dr. Große-Siestrup danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die Hilfe bei der Abfassung der Dissertation.

Ich danke den Mitarbeitern der Tierexperimentellen Einrichtung des Virchow-Klinikums, insbesondere Frau Vildan Oyanik, die als Ansprechpartnerin und helfende Hand mir immer zur Seite stand, Herrn Dr. Michael Meissler, sowie den OP-Schwestern für praktische Tipps und Unterstützung.

Für die Hilfe bei der Organentnahme danke ich Herrn PD Dr. Gero Puhl.

Herrn Dr. Volker Unger und Herrn Frank Zurmühlen danke ich für die Beratung und Hilfeleistung bei der Auswertung der Daten.

Besonderer Dank gilt meiner Mitstreiterin Spiri Coskina, die mit mir tapfer den Perfusionsalltag gemeistert und mit ihrer fröhlichen, positiven Art vieles erleichtert hat.

Zuletzt ein großes Dankeschön an meine Freundin Doro Krastel, die mir die ganze Zeit mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat.

12 SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit versichere ich, Almut Wallstab, die vorliegende Arbeit selbständig sowie nur mit den in der Arbeit angegebenen Quellen und Hilfen verfasst zu haben.

Leipzig, den 16.9.2012

Almut Wallstab