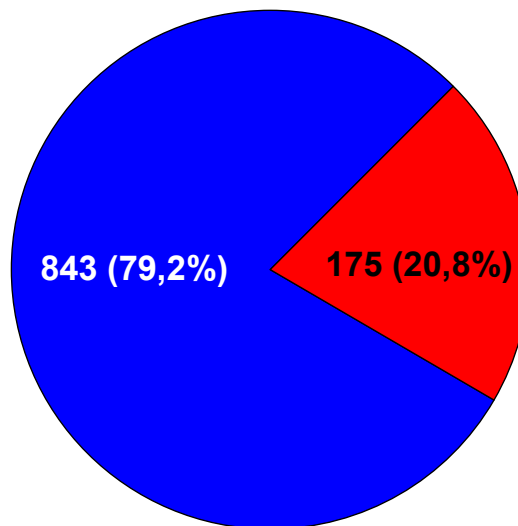


### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Material

##### 3.1.1. Untersuchungs- und Vergleichsgruppe

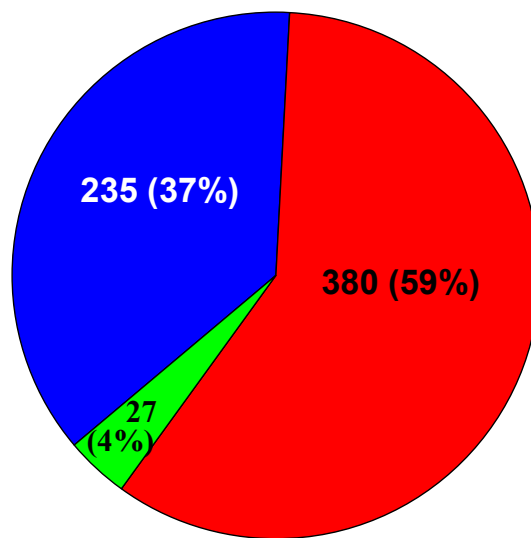
In dem 6-jährigen Untersuchungszeitraum vom 01.01.1999 bis 31.12.2004 hatten in der Organspenderegion Nord-Ost der DSO – Abbildung 2 – 21% der insgesamt 1.018 Organ-spender das 65. Lebensjahr erreicht bzw. überschritten. Die Untersuchungsgruppe bildeten 100 (57%) von ihnen, deren Erlaubnis zur Organentnahme die des Herzens einschloss.



■ Organspender ≤ 65 Jahre ■ Organspender > 65 Jahre

**Abb. 2: Altersverteilung der Organspender (n=1.018) in der Region Nord-Ost (Zeitraum: 01.01.1999 bis 31.12.2004)**

Im gleichen Untersuchungszeitraum wurden in der Kardiovaskulären Zell- und Gewebebank des Deutschen Herzzentrums Berlin (DHZB) die Aorten- und Pulmonalarterienklappen von 642 altersakzeptierten Herzklappenspendern – Abbildung 2 – analysiert.



■ Organspender    
 ■ Herzempfänger    
 ■ Herz-Kreislauf-Tote

### **Abb. 3: Herzklappenspender (n=642) im DHZB (Zeitraum: 01.01.1999 bis 31.12.2004)**

- Mehr als die Hälfte waren nicht transplantable Herzen von Organ Spendern, deren Herzklappen präpariert werden konnten. Sie sollen als Vergleichsgruppe dienen, um eine altersabhängige Gewebeerteration der Aorten- und Pulmonalarterienklappen, die eine Altersbegrenzung begründen könnte, nachweisen bzw. ausschließen zu können.
- Gut ein Drittel sind die eigenen kranken Herzen (Dominoherzen) von 235 Herzempfängern gewesen, die bei der Transplantation entnommen wurden.
- In 4% der Fälle waren die Spender Herz-Kreislauf-Tote.

#### **3.1.2. Material zur retrospektiven Spenderanalyse**

Für die Analyse des gesundheitlichen Allgemeinzustandes der Spender, die sowohl die Vor- und Begleiterkrankungen als auch den aktuellen Funktionszustand seiner Organsysteme umfassen, und der Transplantationsergebnisse standen die zwei deutschlandweit einheitlichen Datenbanken – das Transplantations-Informationssystem (TIS®) und das

DSO Informationssystem (DSOisys®) – zur Spendererfassung für ET sowie regionspezifische, handschriftliche Unterlagen des verantwortlichen DSO-Kkoordinators zur Verfügung. Diese Spenderdaten, deren Umfang teilweise von den zur Transplantation angebotenen Organen abhängt, sind:

- Anamnese (Größe, Gewicht, Erkrankungen, Todesursache),
- aktuelle und Dauermedikation,
- Noxenkonsum (Nikotin, Alkohol, intravenöser Drogenkonsum),
- Labordiagnostik (Blutgruppe, Blutbild, Gerinnung, klinische Chemie, Bakteriologie, Virologie, Gewebetypisierung, Urinstix/-sediment),
- apparative Diagnostik (Röntgenthorax, EKG, Abdomensonographie, Echokardiographie, Bronchoskopie, Koronarangiographie),
- histopathologische Organ- bzw. Gewebefunde und
- zur Transplantation entnommene Organe.

### **3.1.3. Material zur retrospektiven makroskopischen und mikroskopischen Analyse der Herzen und Herzklappen**

Die aus medizinischen bzw. Altersgründen nicht zur Organtransplantation akzeptierten 100 Herzen der Untersuchungsgruppe sind in der "Kardiovaskulären Zell- und Gewebebank" des DHZB von zwei Pathologen untersucht und in einem pathologisch-anatomischen Befund makro- und mikroskopisch charakterisiert worden. Dabei umfasst der makroskopische Untersuchungsbefund der entnommenen Herzen

- das Gewicht des in Formalin fixierten Herzens als absolute Herzmasse [g],
- die Wandstärke beider Ventrikel [mm], gemessen im Bereich der Vorderwand,
- die Durchmesser der Aorten- und Pulmonalarterienklappen [mm], gemessen am Anulus, am Übergang vom Myocard zur Klappenbasis mit HEGAR-Stiften und
- die morphologische Charakteristik der Aorten- und Pulmonalarterienklappen.

Die morphologische Qualität der Klappengrafts ist – wie bei allen altersakzeptierten Herzklappenspendern – nach den BIS-Standards klassifiziert worden (Tab.2, S.103). Dabei bedeuten die Codes 1 und 2 eine gute, die Codes 3 bis 5 eine akzeptable und die Codes 6 bis 10 eine aus verschiedenen Gründen fehlende Eignung zur Transplantation. Sie stimmen mit den Kategorien von HOPKINS überein, bei denen die Kategorie 2 einem per-

fekten, die Kategorie 1 einem akzeptablen und die Kategorie 0 einem nicht transplantablen Homograft entsprechen [49].

Zur mikroskopischen Analyse des Myokards, der intramuralen Gefäße und der Koronararterien der 100 Herzen der Untersuchungsgruppe wurden folgende histologische Präparate angefertigt:

- Myokard beider Ventrikel und des Septums in Hämotoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) und Elastin-van-Gieson-Färbung (EvG-Färbung) sowie
- ringförmige Schnitte der Koronararterien, ebenfalls in HE- und EvG-Färbung.

Mit diesen Präparaten charakterisierten zwei Pathologen die Herzen mikroskopisch bzgl.

- des Grades der muskulären Hypertrophie beider Ventrikel und des Septums,
- des Grades der interstitiellen Fibrose beider Ventrikel,
- der Existenz von Narben und Herzmuskelnekrosen in beiden Ventrikeln,
- des Grades der Wandverdickung/Stenosierung der intramuralen Blutgefäße,
- des Grades der Sklerosierung und Stenosierung der Koronararterien und
- der Wandbeschaffenheit von Aorta und Arteria pulmonalis.

Von den 380 Herzen der altersakzeptierten Herzklappenspender (Vergleichsgruppe) ist die BIS-Qualitätscodierung, die ihre morphologische Eignung beschreibt, den Tissue Documentation Forms, die – analog den Organreports in der Organspende – standardisierte medizinische Informationen über das jeweilige Transplantat geben, entnommen worden.

#### **3.1.4. Material zur metrischen Bestimmung der Myozytengröße**

Die Bestimmung der Größe bzw. der Durchmesser der Myozyten der linken und rechten Ventrikel ist an den Myokardpräparaten in HE-Färbung vorgenommen worden.

Dazu sollten für die geschlechtsspezifischen Hypertrophiekategorien entsprechend der absoluten Herzmasse jeweils drei Herzklappenspender ausgewählt werden (Tab.6, S.104).

Da die absolute Herzmasse in der Untersuchungsgruppe zu einem Drittel oberhalb der kritischen Herzmasse lag, ist der Grad "ausgeprägte Hypertrophie" zusätzlich gebildet worden (Abb.10, S.36). Aufgrund dieser Verteilung der absoluten Herzmasse im Untersuchungsgut konnten nicht für alle gebildeten Kategorien jeweils 3 geeignete Spenderherzen ausgewählt werden, so dass sich insgesamt nur 24 Spenderherzen den gebildeten Hypertrophiekategorien bzw. -graden zuordnen ließen (Tab.3, S.104).

## **3.2. Methoden**

### **3.2.1. Methoden zur retrospektiven Spenderanalyse**

Die zur allgemeinen Charakterisierung der Spender- bzw. Untersuchungsgruppe bei der ET-Anmeldung dokumentierten Anamnesedaten, Untersuchungsbefunde und Laborparameter wurden in Microsoft Office Excel 2003<sup>®</sup> übertragen (Abs.3.1.2.). Ebenso der Body Mass Index (BMI), ein Quotient aus der Körpermasse und dem Quadrat der Körperlänge [ $\text{kg}/\text{m}^2$ ], nach dem die Spender bzgl. des Risikofaktors Übergewicht kategorisiert wurden (Tab.4, S.104).

Die pathologischen Grenzwerte, die bei Laborparametern in Abhängigkeit vom Messverfahren geringfügig variieren können und die für eine Organakzeptanz nicht allein entscheidend sind, basieren auf dem DSOisys<sup>®</sup> und dem Lehrbuch für "Innere Medizin" von SIEGENTHALER (2005) [88].

Für ihre graphische und statistische Auswertung sind Microsoft Office PowerPoint 2003<sup>®</sup>, Excel 2003<sup>®</sup> und SPSS<sup>®</sup> für Windows herangezogen worden.

### **3.2.2. Methoden zur makroskopischen und mikroskopischen Analyse**

Die Daten über die Ventrikelwandstärken, das absolute Herzgewicht (Herzmasse) und das relative Herzgewicht wurden entsprechend numerischer Grenzwerte nach BERTOLINI u. a. (1982) kategorisiert (Tab.5-8, S.104-105) [5].

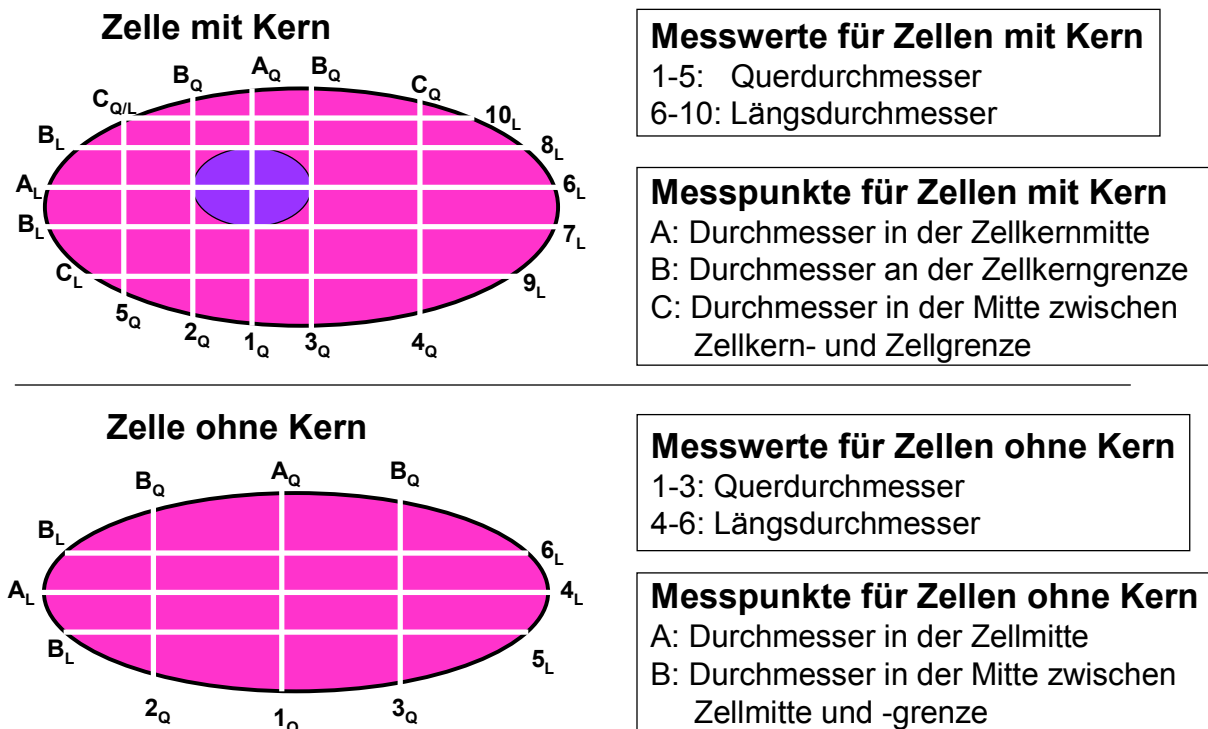
Die von zwei Pathologen des DHZB erhobenen und in Textform dokumentierten Angaben über die Existenz von Narben und Myolysen sowie über die Ausprägungsgrade von Hypertrophie, Fibrose, Gefäßsklerosierung und –stenosierung sind gleichfalls kategorisiert bzw. auf Nominalskalen quantifiziert worden (Tab.9-10. S.105).

Die Daten sind mit Microsoft Office Excel 2003<sup>®</sup>, PowerPoint 2003<sup>®</sup> und SPSS<sup>®</sup> für Windows erfasst und ausgewertet worden.

### **3.2.3. Methoden der metrischen Bestimmung der Myozytengröße**

Von 24 nach ihrem absoluten Herzgewicht ausgewählten Spendern, die geschlechtsspezifisch verschiedene Hypertrophiegrade repräsentieren, sind Größe bzw. Durchmesser der Herzmuskelzellen des linken und rechten Ventrikels lichtmikroskopisch mit dem Easy-Measure-Messprogramm<sup>®</sup> (EM<sup>®</sup>) der Firma Inteq Informationstechnik GmbH bestimmt

worden (Abs.3.1.4). Dazu sind an den dafür vorhandenen HE-Präparaten der Ventrikelmuskulatur jeweils 10 Messwerte (fünf Quer- und Längsmessungen) an 50 Zellen mit Kern und jeweils 6 Messwerte (drei Quer- und Längsmessungen) an 50 Zellen ohne Kern getrennt für beide Ventrikel entsprechend der in Abbildung 4 dargestellten Vorgehensweise ausgemessen worden.



**Abb. 4: Bestimmung der Myozytendurchmesser beider Ventrikel**

Die Bestimmung der mittleren Zelldurchmesser erfolgte in drei Schritten (Tab.11, S.105):

- Im ersten Schritt ist für jede Zelle mit Kern aus Ihren jeweils fünf Quer- und Längsmessungen sowie für jede Zelle ohne Kern aus ihren jeweils drei Quer- und Längsmessungen ein mittlerer Quer- und Längsdurchmesser ermittelt worden.
- In zweiten Schritt wurde aus den mittleren Quer- und Längsdurchmessern einer Zelle ihr gewogener mittlerer Zelldurchmesser gebildet.
- Im dritten Schritt sind aus den gewogenen mittleren Durchmessern jedes gemessenen Myozyten die mittleren Zellgröße für beide Ventrikel getrennt bestimmt worden.

Für die Bestimmung eines mittleren Zelldurchmessers an beiden Ventrikeln ist bei jedem der ausgewählten Spender von fünf möglichen Varianten der Mittelung die Auswertungsvariante 4 gewählt worden, weil die bei dieser Vorgehensweise die Streuung der nahezu identischen Mittelwerte am geringsten ist, wie für die Spender mit kleinster und größter absoluten Herzmasse dargestellt (Tab.11-12, S.105-106).

Die Datenaufbereitung und Auswertung erfolgte mit Microsoft Office Excel 2003<sup>®</sup>, PowerPoint 2003<sup>®</sup>, SPSS<sup>®</sup> für Windows und MedCalc<sup>®</sup> für Windows 95 (6.16).

#### **3.2.4. Statistische Methoden**

Die für die statistische Auswertung angewendeten Rechenprogramme SPSS<sup>®</sup> für Windows, MedCalc<sup>®</sup> für Windows 95 und Microsoft Office Excel 2003<sup>®</sup> hat die DSO zur Verfügung gestellt.

Statistische Signifikanzprüfungen sind mit dem t-Test und dem Chi-Quadrat-Test (als Vier- und Mehrfelder-Test) vorgenommen worden. Den aufgeführten Ergebnissen liegt eine zweiseitige Fragestellung mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ( $p=0,05$ ) zu Grunde.

Zur Verifizierung von Zusammenhängen sind Korrelationen berechnet worden.

Die Darstellung der Streubreite erfolgte mittels Variabilitätskoeffizient nach PEARSON, der das Verhältnis der Streuung zum arithmetischen Mittel darstellt [16].

#### **3.3. Methodenkritik**

Die Quellen der Anamneseerhebung sind bei Organspendern jeglichen Alters, die in der Regel mit einer infausten Hirnschädigung ins Krankenhaus aufgenommen wurden, eingenommene Medikamente, Angehörige, behandelnde Ärzte und archivierte Krankenunterlagen. Dabei beschränkt sich die Datenerhebung meist auf die für die Intensivbetreuung wesentlichen Vor- und Begleiterkrankungen. Während die aktuelle, apparative Diagnostik und Laborparameter die Funktion zumindest der zur Transplantation angebotenen Organe gut charakterisiert, bleibt die Gefahr einer unvollständigen Anamnese bestehen, wie der Fall der Tollwut-Transmission in Deutschland 2005 eindrucksvoll belegt [89, 109]. Dieser Datenmangel wird durch die makroskopische Inspektion des abdominalen und thorakalen Situs bei der Explantation und pathologische Cito-Diagnostik (teilweise) kompensiert. Zu-

sätzlich bieten die DSO-Datensysteme zur Spendererfassung durch die Begründung, warum ein Organ zur Transplantation nicht angeboten, entnommen oder transplantiert worden ist, zusätzliche anamnestiche Daten.

Die Erkennung einer diabetischen Stoffwechsellaage beim Organspender, die durch zusätzliche Diagnostik mögliche mikro- und makroangiopathische Organschäden ausschließen kann, wäre mit einer HbA<sub>1c</sub>-Bestimmung möglich. Obwohl es sich bei ihr heute um eine Routinediagnostik für jedes Krankenhaus handelt, ist sie bei ET noch keine Pflichtuntersuchung; auch nicht für die Vergabe der Pankreata. Da die Routine-HbA<sub>1c</sub>-Bestimmung in der Subregion Berlin-Brandenburg der DSO-Organspenderegion Nord-Ost – zur Förderung der Pankreastransplantation – seit 1997 durchgeführt wird, lagen bei zwei Drittel der untersuchten Organspender zur Explantation Glykohämoglobin-Werte vor, die analysiert werden konnten.

Die pathologische Befundung der Herzen erfolgte nach einem festen Schema mit Angaben über die makroskopischen Herzmaße sowie das lichtmikroskopische Bild des Myokards, der intramuralen Blutgefäße, der (großen) Koronararterien, der Aorta, der Arteria pulmonalis, der Aorten- und Pulmonalarterienklappen. Lediglich die Klappendurchmesser sind nicht vollständig erfasst und niedrige Herzgewichte von unter 300g sind (nur) teilweise als an "Restherzen" erhobene gekennzeichnet gewesen. Da die Untersuchungsbefunde nur von zwei Pathologen des DHZB vorgenommen worden sind, ist der unumgängliche Methodenfehler, der mit der Kategorisierung und Quantifizierung textlicher Befunde und ihrer Ausprägungsgrade verbunden ist, als gering zu erachten. Die zusammenfassende Aussage über das Myokard des linken Ventrikels und Septums, wie bei der Mehrheit der Befunde erfolgt, ist als gleichwertiger Befund verstanden und quantifiziert worden.

Die Entscheidung für Auswertungsvariante 4 beruhte auf einer Analyse der Messdaten der Spender mit dem kleinsten (ET-Nr.:101319) und größten (ET-Nr.:97331) absoluten Herzgewicht (Tab.11-12, S.105-106). Während sich die mittleren Zelldurchmesser bei den einzelnen Auswertungsmodi nur geringfügig unterscheiden, differieren ihre Streuungsbereiche erheblich. Da die Herzmuskelzelle ein in Länge und Breite erheblich variierendes Gebilde ist, wurde die gewogene Mittelung als realistisch zu Grunde gelegt.