

**Diplomarbeit**

**Zellulärer Energiehaushalt bei Organtransplantation**

eingereicht von  
**Philipp Täubl**  
0533210

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde  
(Dr. med. univ.)**

an der  
**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der  
**Universitätsklinik für Innere Medizin**  
und am  
**Institut für Physiologische Chemie**

unter der Anleitung von  
**Priv.-Doz. Dr. med. univ. Vanessa Stadlbauer-Köllner**  
**Ass.Prof. Priv.-Doz. Dipl.-Ing. Dr.techn. Seth Hallström**

Graz, 01. Mai 2011

# **EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, 01. Mai 2011

# DANKSAGUNG

Ich danke meinen Eltern, die mir immer die Möglichkeit gaben meinen angestrebten Ausbildungsweg zu verfolgen. Nur durch diesen familiären Rückhalt war es mir möglich im Rahmen dieser Arbeit mein Studium erfolgreich abzuschließen und einen Teil der Familientradition fortzuführen.

Ich danke weiters meinen ausgezeichneten Betreuern, Frau Priv.-Doz. Dr. med. univ. Vanessa Stadlbauer-Köllner und Herrn Ass.Prof. Priv.-Doz. Dipl.-Ing. Dr.techn. Seth Hallström, die mit ihrer hervorragenden fachlichen Kompetenz einen wesentlichen Beitrag bei der Erstellung dieser Arbeit leisteten sowie rasch und detailliert bei etwaigen Fragen weiterhalfen, was keinesfalls als selbstverständlich anzusehen ist.

# INHALTSVERZEICHNIS

1	Einführung.....	1
1.1	Grundlegendes zur Organtransplantation .....	1
1.2	Gründe für die Notwendigkeit einer Organtransplantation .....	2
1.2.1	Die Leber .....	2
1.2.2	Das Pankreas .....	5
1.2.3	Die Niere.....	7
1.2.4	Das Herz .....	9
1.3	Die Organspende.....	12
1.3.1	Hirntod – Diagnose und ethischer Aspekt.....	12
1.3.2	Lebendspende .....	13
1.4	Grundlagen der energiereichen Phosphate .....	15
1.4.1	Die Biochemie der energiereichen Phosphate.....	15
1.4.1.1	Bereitstellung von Energie .....	15
1.4.1.2	Speicherung von Energie .....	16
1.4.2	Die energiereichen Phosphate zur Bewertung der Transplantats-funktion ...	17
1.5	Pathophysiologische Veränderungen beim Eintreten des Hirntodes.....	18
1.5.1	Hämodynamische Veränderungen.....	19
1.5.2	Hormonelle Veränderungen .....	20
2	Methoden.....	22
2.1	Literaturrecherche .....	22
2.1.1	Suchstrategie PubMed .....	22
2.1.2	Ergebnisse.....	22
2.2	Messung der energiereichen Phosphate und des zellulären Energiestatus’ .....	22
2.3	Tierversuch .....	23
2.3.1	Versuchsaufbau .....	23

2.3.2	Prämedikation .....	24
2.3.3	Einleitung der Narkose .....	24
2.3.4	Beatmung (35 kg) .....	25
2.3.5	Aufrechterhaltung der Narkose .....	25
2.3.6	Monitoring .....	25
2.3.7	Ausrüstung und Bedarfsmedikation .....	26
2.3.8	Induktion des Hirntodes .....	26
2.3.9	Hirntoddiagnostik .....	27
2.3.10	Aufbau des NHBD-Modells .....	27
2.3.11	Intensivmedizinische Spenderpflege .....	27
2.3.12	Entnahme des Herzens vom Spendertier .....	28
2.3.12.1	Aufarbeitung des explantierten Herzens .....	28
2.3.13	Entnahme der abdominalen Organe .....	29
2.3.13.1	Aufarbeitung der explantierten Leber .....	30
2.3.13.2	Aufarbeitung des explantierten Pankreas .....	30
2.3.13.3	Aufarbeitung der explantierten Niere .....	30
2.3.14	Bestimmung von Serumparametern .....	31
2.3.15	Statistik .....	31
3	Ergebnisse .....	32
3.1	Synchronisierung der Daten .....	32
3.2	Relevante Arbeiten .....	32
3.2.1	Leber .....	32
3.2.2	Pankreas .....	39
3.2.3	Niere .....	42
3.2.4	Herz .....	44
3.3	Ergebnisse des Tierversuchs .....	47

3.3.1	Energiestatus der Leber von Lebendspendern im Vergleich zu hirntoten und NHBD Tieren .....	47
3.3.2	Energiestatus des Pankreas von Lebendspendern im Vergleich zu hirntoten und NHBD Tieren .....	48
3.3.3	Energiestatus der Niere von Lebendspendern im Vergleich zu hirntoten und NHBD Tieren .....	49
3.3.4	Energiestatus des Herzens von Lebendspendern im Vergleich zu hirntoten und NHBD Tieren .....	50
4	Diskussion .....	52
4.1	Diskussion der Literaturrecherche .....	52
4.2	Diskussion des Tierversuchs.....	53

# ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
ACE	Angiotensin Converting Encyme = Angiotensin Konversionsenzym
ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
ADH	Antidiuretisches Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AMP	Adenosinmonophosphat
AT1	Angiotensin-1
ATP	Adenosintriphosphat
BGA	Blutgasanalyse
BZ	Blutzucker
°C	Grad Celsius
CO	Kohlenmonoxid
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CT	Computer Tomographie
dL	Deziliter
EC	Energy Charge = Energieumsatz
ECR	Extracorporeal Rewarming = Extrakorporale Wiederaufwärmung
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiographie
FDP	Fruktose-1,6-Diphosphat
FEV1	Forciertes Expiratorisches Volumen in einer Sekunde
g	Gramm
GCS	Glasgow Coma Scale = Glasgow Koma Skala
g dw	Gram Dry Weight = Gramm Trockengewicht
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
g Prot	Gramm Proteingewicht
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathion Disulfid
g ww	Gram Wet Weight = Gramm Feuchtgewicht
h	Hour = Stunde
HB	Heart Beating = mit schlagendem Herzen
HBD	Heart Beating Donor = Organspender mit schlagendem Herzen

HBSS	Hank's Balanced Salt Solution
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	Human Leukocyte Antigen = Humanes Leukozytenantigen
HMP	Oxygenierte Hypotherme Maschinelle Perfusion
HPLC	High Performance Liquid Chromatography = Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HTK	Histidin Tryptophan Ketoglutarat
HTR	Hypotherme Reperfusion
HTS	Hirntoter Spender
ICD	Implantierbarer Kardioverter Defibrillator
ICP	Intracranial Pressure = intrakranieller Druck
ID	Innendurchmesser
I.E.	Internationale Einheiten
i.v.	intravenös
K <sup>+</sup>	Kalium
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kJ	Kilojoule
kK	kalte Konservierung
L	Liter
LS	Lebenspender
mg	Milligramm
min	Minuten
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
mol	Mol
MR	Magnetresonanz-Tomographie
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
µm	Mikrometer
µmol	Mikromol
n	Fallzahl
NAD <sup>+</sup>	Nikotinamidadenindinukleotid (oxygenierte Form)
NADH	Nikotinamidadenindinukleotid (reduzierte Form)
NHB	Non Heart Beating = ohne schlagendem Herzen
NHBD	Non Heart Beating Donor = Organspender ohne schlagendem Herzen

nm	Nanometer
nmol	Nanomol
NYHA	New York Heart Association
O-PFC	Oxygeniertes Perfluorocarbon
O-ePFC	Oxygeniertes und Emulgiertes Perfluorocarbon
PAPmean-PCwP	Pulmonary Arterial Pressure – Pulmonary Capillary Wedge Pressure = Pulmonalarterien – Verschlussdruck - Gradient
PAVK	Peripher Arterielle Verschlusskrankheit
PKr	Phosphokreatin
ppm	parts per million = Teile von einer Million
PTCA	Perkutane Transluminale Koronare Angioplastie
ROS	Reactive Oxygen Species = Reaktive Sauerstoffspezies
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
Sal-B	Salvianol-B Säure
St.p.	Status post = Zustand nach
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin
TAN	Totaler Adeninnukleotid Gehalt
TMZ	Trimetazidin
TSH	Thyroidea Stimulierendes Hormon
U	Units = Einheiten
UW	University of Wisconsin
V.	Vena
Vv.	Venae
VSOP	Venös Systemische O <sub>2</sub> Persufflation
WI	Warme Ischämie
ZVD	Zentralvenöser Druck

# ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Neuanmeldungen und tatsächliche Lebertransplantationen in Deutschland von 2000 bis 2009.....	2
Abbildung 2: Die Pankreastransplantationsrate in den USA und Europa bezogen auf 1 Million Einwohner im Zeitraum 2002 bis 2006.....	6
Abbildung 3: Strukturformel von ATP .....	15
Abbildung 4: Systemische und hormonelle Antwort bei Hirntod.....	19

# TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Anhand des Karnofsky-Index kann die Dringlichkeit der Transplantation quantitativ angegeben werden.....	5
Tabelle 2: Anzahl der Transplantationen in Deutschland von 2008 bis 2010 (Lebendspenden ausgenommen).....	8
Tabelle 3: Ätiologie des chronischen Nierenversagens .....	8
Tabelle 4: NYHA-Klassifikation .....	11
Tabelle 5: Das Outcome von Lebendspenden gegenüber Hirntod-Spenden.....	14
Tabelle 6: Gehalt der energiereichen Phosphate von Rattenlungen nach 0, 6, 9 und 12 Stunden Ischämie (Angabe in $\mu\text{mol/g dw}$ ).....	18
Tabelle 7: Ratio zwischen Trocken-, Feucht- und Proteingewicht .....	32
Tabelle 8: Erhebung der EC- und ATP-Werte aus den in Kapitel 3.2.1 beschriebenen Arbeiten. Bei * wurde die wahrscheinlichste Maßangabe angenommen. ....	39
Tabelle 9: Erhebung der EC- und ATP-Werte aus den in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Arbeiten. Bei * wurde die wahrscheinlichste Maßangabe angenommen. ....	42
Tabelle 10: Erhebung der EC- und ATP-Werte aus den in Kapitel 3.2.3 beschriebenen Arbeiten. Bei * wurde die wahrscheinlichste Maßangabe angenommen.....	44
Tabelle 11: Erhebung der EC- und ATP-Werte aus den in Kapitel 3.2.4 beschriebenen Arbeiten. Bei * wurde die wahrscheinlichste Maßangabe angenommen.....	47
Tabelle 12: Vergleich von hepatischem ATP, ADP und AMP sowie EC bei LS, HTS und NHBD vor und nach Perfusion sowie nach 6 Stunden Ischämie (in $\mu\text{mol/g Prot}$ ).....	48
Tabelle 13: Vergleich von pankreatischem ATP, ADP und AMP sowie EC bei LS, HTS und NHBD vor und nach Perfusion sowie nach 6 Stunden Ischämie (in $\mu\text{mol/g Prot}$ ).....	49
Tabelle 14: Vergleich von renalem ATP, ADP und AMP sowie EC bei LS, HTS und NHBD vor und nach Perfusion sowie nach 12 Stunden Ischämie (in $\mu\text{mol/g Prot}$ ).....	50
Tabelle 15: Vergleich von kardialem PKr, ATP, ADP und AMP sowie EC bei LS, HTS und NHBD vor und nach Perfusion sowie nach 4 Stunden Ischämie (in $\mu\text{mol/g Prot}$ ).....	51

## ZUSAMMENFASSUNG

In der Literatur bestehen widersprüchliche Arbeiten bezüglich verschiedener Spenderarten wie hirntote Spender, Lebendspender und NHBD und deren Einfluss auf die Funktion des Transplantats. Als Maß zur Qualität des Spenderorgans dient der Gehalt an energiereichen Phosphaten. Ziel der Arbeit war es daher, im Rahmen einer Literaturrecherche Ergebnisse bereits bestehender Arbeiten zu erfassen und mit denen eines aktuell durchgeführten Versuches an jeweils 6 hirntoten, lebenden und NHB-Schweinen (Leber, Pankreas, Niere, Herz) zu vergleichen.

Zur Erfassung von 26 relevanten Arbeiten wurde die bibliographische Literaturdatenbank PubMed herangezogen. Im durchgeführten Versuch (1) wurde bei 6 Schweinen mittels eines intrakraniellen Ballons der Hirntod induziert. 10 Stunden nach bestätigtem Hirntod wurden die Organe entnommen. Bei weiteren 6 NHB-Schweinen wurde durch 9 Volt Gleichstrom eine ventrikuläre Fibrillation ohne kardialen Auswurf für 10 Minuten induziert und von 30-minütiger mechanischer und medikamentöser Reanimation gefolgt. Bei den 6 Lebendspendern wurden die Organe direkt unter Narkose entnommen. Mittels Gefrierzange wurden Biopsien vor Perfusion (UW für Leber, Pankreas, Niere bei hirntoten und Lebendspendern sowie HTK bei NHBD; Celsior für Herz), nach Perfusion und nach Ischämie (6 Stunden bei Leber und Pankreas, 12 Stunden bei Niere, 4 Stunden bei Herz) entnommen und der ATP, ADP, AMP Gehalt durch HPLC sowie der daraus resultierende EC berechnet.

Die Resultate des durchgeführten Tierversuchs zeigten im Vergleich zu der erfassten Literatur insgesamt bessere ATP- und EC-Werte. Dies ist vor allem als Zeichen für die hohe Qualität bei der Durchführung des Versuchs zu deuten. Die Ergebnisse des Versuchs zeigten bei den einzelnen Spenderarten keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Energiestatus. Der Verlust an energiereichen Phosphaten während Perfusion und Ischämie konnte bei allen Spenderarten und bei jedem Organ beobachtet werden. Zusammenfassend ist kein energetischer Unterschied zwischen Organen hirntoter Spender und NHBD im Vergleich zu Lebendspendern bei einer durchschnittlich tolerierbaren Ischämiezeit festzumachen.

## ABSTRACT

There is contradiction in literature concerning different donor types in transplantation (brain dead donors, living donors, NHBD) and their effect on graft function. The quality of tissue correlates with contents of high energy phosphate. Therefore aim of the study was to compare results of previous articles with those of a recent study on pigs, investigating the difference between brain dead, living and NHB donors and their contents of high energy phosphates in liver, pancreas, kidney and heart.

Using the bibliographic database PubMed 26 relevant articles were found. The study itself (1) divided 18 pigs into 3 groups (n=6). In the first group brain death was induced inflating an intracranial balloon. Ten hours after confirmation of brain death, organs were explanted. In the second group cardiac fibrillation, without output for 10 minutes, was induced by 9 V direct current, followed by 30 minutes of mechanical and medical reanimation. In the living-donor group organs were explanted immediately during anesthesia. Before perfusion (UW for liver, pancreas, kidney at the brain dead and living group and HTK at the NHBD group, Celsior for heart), after perfusion and after ischemia (6 h for liver and pancreas, 12 h for kidney and 4 h for heart) biopsies were taken using a freeze-clamp in order to measure the contents of ATP, ADP and AMP by HPLC. EC was calculated afterwards.

Overall the study's results showed higher contents of ATP and a higher EC compared to most of the articles. This suggests that the experiments in the study were performed in a high degree of quality. The results of the study showed no difference between the donor types concerning ATP and EC. During perfusion and ischemia all organs of all donors showed a decrease of high energy phosphate and EC. Summarizing the study's findings, after average tolerable ischemia there is no energetic difference in organs of brain dead, living and NHB donors.

# 1 EINFÜHRUNG

## 1.1 Grundlegendes zur Organtransplantation

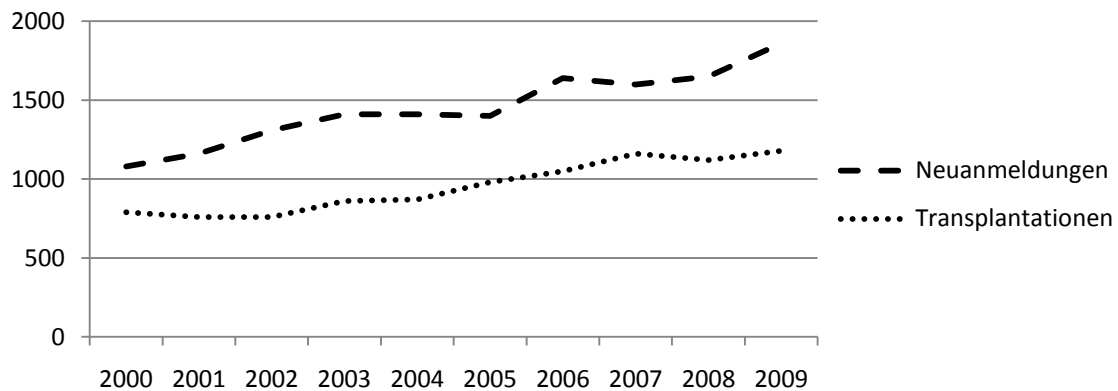
Im Jahre 1954 wurde durch die beiden Ärzte Joseph Murray und J. Hartwell Harrison die erste erfolgreiche Organtransplantation durchgeführt. Eine Niere konnte bei einem Mann entfernt und bei dessen Zwilling Bruder erfolgreich verpflanzt werden. Der damalige Organempfänger konnte dadurch von seiner terminalen Niereninsuffizienz befreit werden und lebte weitere sieben Jahre. (2)

Seit diesem Meilenstein wurde die Möglichkeit der Organtransplantation weiterentwickelt und führt in vielen Fällen zu einer Heilung bei Patienten mit ansonsten weitgehend therapieresistenter Organinsuffizienz. Beim derzeitigen Stand der Wissenschaft bietet die Medizin die Möglichkeit der Transplantation von Herz, Lunge, Leber, Pankreas, Niere, Dünndarm, Cornea, Knochen, Knochenmark, Haut und Gefäße (3).

Die Heilungsrate durch die Therapie der Transplantation ist hoch, jedoch kann durch das bestehende Disäquilibrium zwischen Organspendern und –empfängern zu Ungunsten der Empfänger nicht jeder Patient rechtzeitig behandelt werden. So liegt es einerseits an der gesetzlichen Regelung der einzelnen Staaten, sowie dem Bewusstsein der Möglichkeit der Organspende in der Bevölkerung, weiters aber auch am medizinischen Fortschritt, eine größere Anzahl an Patienten adäquat zu versorgen. Medizinische Möglichkeiten der Erweiterung des vorhandenen Organ-Pools bieten sich durch gute medizinische Vorbereitung der Empfänger, der Spender bei Lebendspenden, sowie der behandelnden Ärzte, rasche Verteilung der vorhandenen Organe, minimale Ischämiezeit, maximale Instandhaltung der Organe (durch mechanische Perfusionsverfahren, Perfusionslösungen) aber auch durch bestmögliches Wissen über Verwendbarkeit und komplexe pathophysiologische Einflüsse auf die zu transplantierenden Organe.

Stellvertretend für dieses Missverhältnis zwischen Spendern und Empfängern sei die Zahl der Neuanmeldung für eine Lebertransplantation und die tatsächliche Transplantation in Deutschland im Zeitraum 2000 bis 2009 genannt (Abbildung 1). Beachtet werden muss hierbei der Anteil an während der Wartezeit verstorbenen Patienten und der Patienten, die

aufgrund des vorangeschrittenen schlechten körperlichen Allgemeinzustandes von der Warteliste genommen werden mussten. Dies gilt vor allem für die Organe Herz und Leber.



**Abbildung 1: Neuanmeldungen und tatsächliche Lebertransplantationen in Deutschland von 2000 bis 2009**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (4)

Zum momentanen Zeitpunkt warten in Deutschland 12.000 Patienten auf ein neues Organ. 8.000 davon allein auf eine Niere. Es warten in etwa 3-mal so viele Patienten auf eine neue Niere, wie Transplantate zur Verfügung stehen. (5)

## **1.2 Gründe für die Notwendigkeit einer Organtransplantation**

Aus Gründen der Übersicht und der Bezugnahme dieser Arbeit auf die nachfolgende Studie wird nur auf die Organe Leber, Niere, Herz und Pankreas eingegangen und auf eine Beschreibung der weiteren transplantierbaren Organe wie Lunge oder Darm verzichtet.

### **1.2.1 Die Leber**

Da die Leberfunktion nicht wie bei der Niere (durch Dialyse) künstlich ersetzt werden kann, ist bei Versagen des Organs, sei es durch akute oder chronische Ursachen, häufig eine Lebertransplantation indiziert. Die häufigere Therapie liegt aufgrund der operativ unangenehmen Lage der Gefäße und des Gallengangs in der orthotopen Transplantation.

Als Ursache für ein Leberversagen zählen unter Anderem:

## 1. Chronische Lebererkrankungen

- Gallenwegssystemerkrankungen
  - Primär biliäre Zirrhose
  - Primär sklerosierende Cholangitis
  - Gallengangsatresie
  - Alagille-Syndrom
- Leberparenchymschäden
  - Autoimmunhepatitis
  - Chronische Hepatitis B
  - Chronische Hepatitis C
  - Kryptogene Zirrhose
  - Alkoholtoxische Zirrhose
- Stoffwechselerkrankungen
  - Morbus Wilson
  - Alpha1-Antitrypsin-Mangel
  - Galaktosämie
  - Tyrosinämie
  - Hämochromatose
- Neoplasien
  - Metastasen neuroendokriner Tumoren
  - Hepatozelluläres Karzinom
  - Zentrales Gallengangskarzinom (Klatskin-Tumor)
- Sonderformen
  - Budd-Chiari-Syndrom
  - Lebertrauma
  - Zystenleber
  - Echinococcus alveolaris

## 2. Akutes Leberversagen

- Hyperakute Form (0-7 Tage)
- Akute Form (8-28 Tage)
- Subakute Form (29-72 Tage)

Die Indikation zur Lebertransplantation lässt meist einen mehr oder weniger breiten Ermessensspielraum offen, der auf die unterschiedlichen Verläufe der meist chronischen Ursachen zurückzuführen ist. Trotzdem kann die Indikation zur Operation gesetzt werden, wenn die konservativen Behandlungsverfahren ausgeschöpft sind und Zeichen wie, körperliche Schwäche, zunehmende Müdigkeit (unter Beachtung des bio-psycho-sozialen Umfelds), hepatische Enzephalopathie (unter Ausschließung von neuropsychiatrischen Hirnerkrankungen), Aszites, gastrointestinale Blutungen, hepatorenales Syndrom (unter Abgrenzung von primär renaler Ursache) und instabile, sich verschlechternde Laborparameter auftreten (Tabelle 1). Die Laborparameter sollte immer nur im Einklang mit der vorliegenden Klinik zur Bestimmung des Indikationszeitpunkts bewertet werden. Hierfür nützliche Parameter sind Bilirubin (schlechte Prognose bei  $>150 \mu\text{mol/L}$ ), Albumin (kritische Leberleistung bei  $<2,5 \text{ mg/dL}$ ), Gerinnung (kritische Leberleistung bei Quick  $<40 \%$ ) sowie Cholinesterase (kritische Leberleistung bei  $<1500 \text{ U/L}$ ). (6)

Als Kontraindikationen lassen sich schwere Infektionen, Pneumonie, Sepsis, Multiorganversagen, extrahepatische Malignome (Beachtung der Milan-Kriterien<sup>1</sup>), fortgeschrittene kardiopulmonale Erkrankungen, HIV und AIDS, manifeste Alkoholkrankheit, eine Non-Compliance des Patienten (vor allem in Zusammenhang mit Einnahme der Immunsuppressiva oder Erscheinen zu Nachkontrollen) sowie als relative Kontraindikation ein Lebensalter von über 65 Jahren aufzählen. (7)

---

<sup>1</sup> Gilt nur für hepatozelluläres Karzinom: im CT (nicht MR) dürfen nur 1 Tumor bis zu 5 cm Durchmesser oder maximal 3 Tumoren bis zu 3 cm Durchmesser diagnostiziert werden (88).

Stufe	Status	Karnofsky-Index	Grad	Leberfunktion
1	Hochelektiv	100 – 90 %	0	Befriedigend
2	Elektiv	80 – 70 %	1	Befriedigend
3	Beginnend schlecht	60 – 50 %	2	Reduziert
4	Fortgeschritten schlecht	40 – 30 %	3	Dekompensiert
5	Notfallmäßig	20 – 10 %	4	keine

**Tabelle 1: Anhand des Karnofsky-Index kann die Dringlichkeit der Transplantation quantitativ angegeben werden**

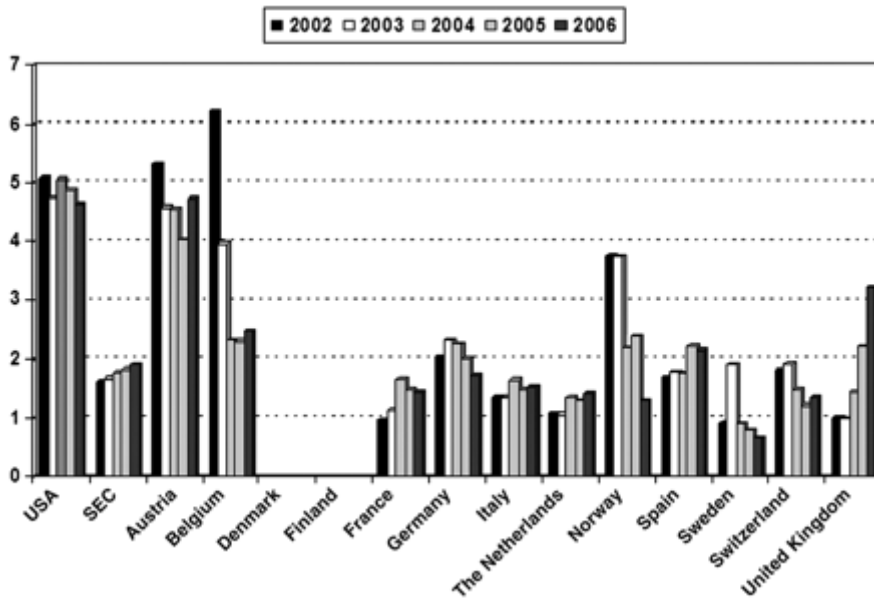
Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (6)

### 1.2.2 Das Pankreas

Die klassische Erkrankung der Pankreastransplantationspatienten ist der Diabetes Mellitus Typ I, was zur Folge hat, dass vergleichsweise junge Patienten um ein Spenderorgan ansuchen. Die Patienten haben meist einen negativen C-Peptid-Wert, welcher aus der Zerstörung der  $\beta$ -Zellen resultiert und auch als Abgrenzung zum Typ II Diabetes dient. Zusätzlich liegt aufgrund der diabetischen Nephropathie meist eine terminale oder präterminale Niereninsuffizienz vor, sodass oft eine kombinierte Pankreas-Nieren-Transplantation vollzogen wird. Im Gegensatz zur Leber erfolgt die Transplantation des Pankreas im Großteil der Fälle als heterotope Transplantation (Inguinalregion).

Die Anwendung von simultaner Pankreas-Nieren-Transplantation bei Typ II Diabetikern wird kontrovers diskutiert, da zwar nach erfolgter Transplantation die Insulinproduktion wieder funktionieren würde, die aber bereits entstandenen Begleiterkrankungen nur kaum minimiert werden könnten. Abgesehen davon steht die Vielzahl der Typ II Diabetiker in den Industriestaaten in einem Missverhältnis mit dem bereits stark begrenzten Spenderorgan-Angebot. Momentan wird die Möglichkeit der Transplantation bei Typ II Diabetikern in den USA angewandt. Dort werden 5 % aller Pankreas-Transplantationen an Typ II Diabetikern vollzogen. (7)

Die Pankreastransplantation ist vor allem für die Länder Österreich, Belgien und USA (Abbildung 2) aufgrund der hohen Transplantationsrate ein wichtiges Thema.



**Abbildung 2: Die Pankreastransplantationsrate in den USA und Europa bezogen auf 1 Million Einwohner im Zeitraum 2002 bis 2006**

Quelle: (8)

Die Ursachen für einen juvenilen Diabetes Mellitus sind nicht gesichert, allerdings tritt oft eine Assoziation mit HLA-DR 3 und –DR 4 auf. Auch die Häufigkeitsverteilung bei Zwillingen lässt auf eine genetische Komponente schließen. Der Zeitpunkt der Erstmanifestation liegt zu je 50 % vor und nach dem zwanzigsten Lebensjahr.

Die betroffenen Patienten leiden durch die instabilen Glukose-Werte ähnlich wie die Typ II Diabetiker an erhöhter Koronarsklerose, zerebrovaskulärer Insuffizienz, peripheren Makro- und Mikroangiopathien vor allem der unteren Extremität, peripherer Neuropathie (diabetisches Fußsyndrom), autonome Gastroenteropathien, Retinopathien sowie an genannter Nephropathie, die 15-25 Jahre nach Krankheitsbeginn zu 30 % eine terminale Niereninsuffizienz zur Folge hat. (6)

Die Indikation zur Pankreastransplantation kann dann gestellt werden, wenn der Blutzucker trotz Ausnützung der pharmakologischen Möglichkeiten nicht stabil gehalten werden kann und so die Patienten unter rezidivierenden, lebensbedrohlichen Hypoglykämien, sowie unter ketoazidotischen Entgleisungen leiden. Die Verwendung der nephrotoxischen Immunsuppressiva (Tacrolimus, Cyclosporin) setzt eine präoperativ vorhandene Kreatinin-Clearance der Eigennieren von 60-70 mL/min sowie bei bereits transplantierten Nieren 40-50 mL/min als Einschlusskriterium voraus. (7)

Eine simultane Pankreas- und Nierentransplantation ist bei diabetischer Nephropathie indiziert wenn eine präterminale oder dialysepflichtige Niereninsuffizienz vorliegt. Eine alleinige Nierentransplantation würde hier nach wenigen Jahren durch das geschädigte Pankreas abermals zu einer diabetischen Nephropathie führen.

Eine alleinige Pankreastransplantation wäre bei normaler Nierenfunktion aber anderen diabeteskorrelierenden Erkrankungen wie Retinopathie indiziert. Die Erfolgsrate bei diesem Verfahren ist gegenüber der simultanen Transplantation geringer, da eine ansonsten implantierte Niere nicht als Abstoßungsparameter herangezogen werden kann.

Als Kontraindikation der Pankreastransplantation sind ein Alter von über 45 (die diabetischen Spätschäden verlaufen hier milder), Malignome, nicht sanierbare Infektionen, psychische Erkrankungen, periphere Arteriopathien mit Gangrän, koronare Herzkrankheit mit Angina pectoris, invalidisierende periphere Neuropathie und schwere autonome Neuropathie (insbesondere Gastroparese) aufzuzählen. (6)

### **1.2.3 Die Niere**

Die Nierentransplantation ist neben der Dialyse ein geeignetes Verfahren um Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zu behandeln. Die Transplantation ist gegenüber der Dialyse aber zu bevorzugen, da die Dialyse zwar die lebenswichtigen Organfunktionen intakt hält, die Leistungsfähigkeit aber im Gegensatz zur Transplantation massiv eingeschränkt ist. Darüber hinaus ist der zeitliche Aufwand, der nach einer Transplantation die Nachkontrollen beinhaltet, der mehrmals wöchentlichen Dialyse vorzuziehen und hat somit auch einen positiven Effekt auf das soziale Umfeld. Die Niere ist mit Abstand das am häufigsten transplantierte Organ (Tabelle 2).

	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010 (vorläufig)</b>
Niere	2.188	2.172	2.272
Leber	1.060	1.119	1.187
Herz	382	363	393
Lunge	270	272	298
Pankreas	137	115	163
Inselzellen	2	2	3
Dünndarm	11	8	10
	<b>4.050</b>	<b>4.051</b>	<b>4.326</b>

**Tabelle 2: Anzahl der Transplantationen in Deutschland von 2008 bis 2010 (Lebendspenden ausgenommen)**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (9)

Als Indikation zur Nierentransplantation zählt, aufgrund der langen Wartezeit auf ein geeignetes Spenderorgan und die währenddessen mögliche Dialyse, nahezu allein das chronische Nierenversagen. Als Klassifikation für die Schwere der Niereninsuffizienz wird die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) beurteilt. Hieraus ergeben sich 5 Stufen der Nierenfunktion von Nierenschaden mit normaler oder erhöhter GFR (Stufe 1, GFR >90) bis zu Ausfall der Nierenfunktion (Stufe 5, GFR <15 oder Dialyse) (10). Ursachen hierfür ergeben sich aus mehreren Erkrankungen (Tabelle 3).

	<b>Alter 15-64 Jahre</b>	<b>&gt;64 Jahre</b>
Glomerulonephritis	27 %	13 %
Interstitielle Nephritis	17 %	20 %
Zystennieren	7 %	4 %
Diabetes mellitus I und II	11 %	11 %
Hypertonie	8 %	16 %
sonstige	16 %	15 %
unbekannt	14 %	21 %

**Tabelle 3: Ätiologie des chronischen Nierenversagens**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (6)

Ähnlich wie bei den bereits beschriebenen Organen zählen zu den Kontraindikationen einer Nierentransplantation eine ausgeprägte Zerebralsklerose, Koronarsklerose, PAVK (besonders beim Diabetiker) sowie ein Alter von <5 Jahren und als relative Kontraindikation ein biologisches Alter von >65-70 Jahren. In Zusammenhang mit der postoperativen Immunsuppression sollte auf nicht sanierte Malignomerkrankungen, bakterielle Infekte wie

Bronchiektasen und Osteomyelitis sowie auf chronisch virale Infekte wie eine aktive Hepatitis geachtet werden. (6)

#### 1.2.4 Das Herz

In der westlichen Welt zählt die Herzinsuffizienz zu den führenden Todesursachen, die unmittelbar mit dem Alter korreliert. So sind zum derzeitigen Stand weniger als 1 % der unter-55-jährigen, bereits 2-5 % der 65-75-jährigen und 10 % der über-80-jährigen von Herzinsuffizienz betroffen. Die Inzidenz liegt bei Männern 1,5-mal so hoch. Definiert wird die Herzinsuffizienz durch die Unfähigkeit des Herzens die Organe bzw. Gewebe ausreichend mit Sauerstoff zu versorgen, sodass der Stoffwechsel in Ruhe und bei Belastung nicht aufrecht erhalten werden kann. (11)

Die Ursachen für eine Herzinsuffizienz sind mannigfaltig (6):

- 1) Dilatative Kardiomyopathie
  - Idiopathisch/kongestiv: Dilatation der Herzhöhlen mit darauf folgender Globalherzinsuffizienz ohne feststellbarer Ursache
  - Virusmyokarditis: Herzinsuffizienz, oft begleitet von ventrikulären Herzrhythmusstörungen, nach abgelaufener Virusinfektion
  - St. p. Herzklappenoperation: Globalherzinsuffizienz bei geschädigtem Myokard
- 2) Ischämische Kardiomyopathie (koronare Herzerkrankung mit oder ohne Dilatation, die nicht konventionell behandelbar ist (Aortokoronare Bypass-Operation, PTCA, Laser))
  - Diffuse Gefäßerkrankung unter Beteiligung der distalen Koronarien
  - Ausgedehnte Myokardinfarkte
  - Bei St. p. mehrfacher Bypass
- 3) Hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie
  - Myokardiale Wandhypertrophie vor allem des linken Ventrikels

- 4) Restriktive Kardiomyopathie (Verminderte diastolische Füllung ohne Dilatation)
  - Endomyokardfibrose
  - Amyloidose
  - Fibroblastische Endokarditis (Morbus Löffler)
- 5) Komplexe, unkorrigierbare kongenitale Herzfehler ohne Eisenmenger-Reaktion
  - Nach palliativem Eingriff (Shunt-Operation, Fontan-Operation) oder als primäre Therapie
  - Bei Ausschöpfen anderer chirurgischer Maßnahmen
- 6) Intraktable ventrikuläre Herzrhythmusstörungen
  - Ischämisch oder Nicht-ischämisch bedingte ventrikuläre Tachyarrhythmien mit Synkopen oder daraus folgender Herzinsuffizienz (z.B. nach rhythmus-chirurgischen Eingriffen oder ICD-Implantation)
- 7) Herztumore
  - Maligne: Sarkome, Lymphome
  - Benigne: Rhabdomyome, Fibrome, Teratome

Das Problem der chronischen Herzinsuffizienz basiert laut momentaner Hypothese auf einer primären Myokardschädigung, die durch gegenregulatorische Maßnahmen des Körpers verschlimmert wird. Dies führt zu einem „circulus vitiosus“, der zu einem Großteil durch pharmakologische Therapie durchbrochen werden kann. Hierzu zählen die Verwendung von (12):

- Diuretika: Führen zu vermehrter Wasserausscheidung und somit geringerem Pumpvolumen für das Herz.
- ACE-Hemmer: Hemmen die Produktion von Angiotensin II, das ansonsten in weiterer Folge zu einem erhöhten Gefäßtonus und vermehrter Wasserretention führt.
- AT<sub>1</sub>-Rezeptorblocker: Hemmen das Andocken von Angiotensin II an dessen Rezeptor und wirken somit in ähnlicher Weise wie die ACE-Hemmer unter geringere Ausprägung von Nebenwirkungen.
- Betablocker: Blockieren die  $\beta$ -Rezeptoren für Noradrenalin und Adrenalin und führen so zu einer Blutdruck und Herzfrequenz-Senkung.
- Digitalisglykoside: Bewirken eine gesteigerte Kontraktionskraft (positive Inotropie), eine Verringerung der Schlagfrequenz (negative Chronotropie),

eine Verlangsamung der Erregungsleitung (negative Dromotropie) und eine Senkung der Erregungsreizschwelle (positive Bathmotropie).

Zur Indikation zur Herztransplantation zählt eine terminale Herzinsuffizienz, die nicht mit den genannten medikamentösen Therapien beherrscht werden kann. Zur quantitativen Beschreibung der Herzinsuffizienz dient die Klassifikation der New York Heart Association (NYHA) (Tabelle 4), wobei Patienten mit NYHA III und IV als potentielle Transplantationspatienten gelten. (6)

NYHA	
<b>I</b>	Herzerkrankung ohne körperliche Limitation. Alltägliche körperliche Belastungen verursachen keine unangemessene Erschöpfung, Angina pectoris, Rhythmusstörungen oder Luftnot.
<b>II</b>	Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der Leistungsfähigkeit. In Ruhe beschwerdefrei. Symptome wie Erschöpfung, Angina pectoris, Rhythmusstörungen oder Luftnot bei alltäglicher Belastung.
<b>III</b>	Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der Leistungsfähigkeit. Symptome wie Erschöpfung, Angina pectoris, Rhythmusstörungen oder Luftnot bei leichter Belastung.
<b>IV</b>	Herzerkrankung mit Beschwerden wie Erschöpfung, Angina pectoris, Rhythmusstörungen oder Luftnot in Ruhe.

**Tabelle 4: NYHA-Klassifikation**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (13)

Die Kontraindikationen zur Herztransplantation umfassen viele Erkrankungen und Pathologien und sind dadurch von denen, der bereits genannten Organe, abzugrenzen. Sie umfassen als absolute Kontraindikation einen Lungengefäßwiderstand über 6 bis 8 Wood-Einheiten (Wood-Einheit = Pulmonalarterien-Verschlussdruck-Gradient (PAPmean-PCwP) pro Herzminutenvolumen), einen PAPmean-PCwP von >25 mmHg, schwere Leberfunktionsstörungen, schwere Nierenfunktionsstörungen (Kreatinin >250 mmol/L), floride Ulkuserkrankung, chronische Pankreatitis, arterielle Verschlusskrankheit bei Fontaine Stadium III-IV, Karotisstenose, zerebraler Insult mit bestehenden Symptomen, floride Infektion, Malignome, inadäquates psychosoziales Umfeld. Zu den relativen Kontraindikationen zählen ein Alter von >65 Jahre, ein PAPmean-PCwP von >15 mmHg, eine Einschränkung der Lungenfunktion von FEV<sub>1</sub> <1500 mL, insulinpflichtiger Diabetes mellitus, Epilepsie und eine positive Malignomanamnese. (6)

## 1.3 Die Organspende

Um eine allogene Organtransplantation durchführen zu können ist eine Organspende von Nöten. Diese kann sowohl von Lebendspendern als auch von Leichenspendern bezogen werden. Im Folgenden werden die Unterschiede dieser beiden Möglichkeiten genauer betrachtet.

### 1.3.1 Hirntod – Diagnose und ethischer Aspekt

Die Diskussion über die Rechtmäßigkeit der Diagnose „Hirntod“ ist eine lange, da sie einen komplexen medizinethischen Sachverhalt darstellt. Um eine Leichenspende durchführen zu können, ist aber eine kardiopulmonale Funktion (meist mittels apparativer und pharmakologischer Unterstützung) und die Diagnose Hirntod von Nöten. Wichtig ist hier die Definition des Hirntodes zu beachten, die wie folgt lautet: *„Der Hirntod wird definiert als Zustand der irreversiblen erloschenen Gesamtfunktion des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstammes. Entsprechend dem aktuellen Stand der Wissenschaft ist der Hirntod identisch mit dem Individualtod eines Menschen (14).“*

Um überhaupt mit der Diagnostik von Hirntod zu beginnen, bedarf es in Österreich einem Vorliegen einer akuten primären oder sekundären Hirnschädigung. Einflüsse wie Intoxikation, Relaxation, primäre Hypothermie, hypovolämischer Schock sowie endokrines oder metabolisches Koma müssen aber ausgeschlossen werden. Erst dann wird mit der Überprüfung der klinischen Symptome begonnen. Hierzu zählt die Bewertung des Komas (GCS 3). Die Augen können weder spontan noch durch externen Reiz geöffnet werden, keine motorische Reaktion durch externen Reiz (außer spinale Reflexe) sowie keine Lautäußerungen. Darauf folgend werden die Hirnstammreflexe überprüft: Keine Pupillenreaktion bei Lichteinfall, keine spontanen oder durch Passivbewegungen oder kalorische Stimulation auslösbaren Augenbewegungen, Fehlen des Cilio-spinal-, Masseter-, Korneal-, Pharyngeal- und Hustenreflexes, kein Grimassieren bei Druckprovokation von Bulbi, Trigemini oder Nasenseptum, schlaffe Tetraplegie, Steigerung der Herzfrequenz um maximal 15 % bei Applikation von 2 mg Atropin i.v., sowie Apnoe (Feststellung durch BGA unter unterschiedlicher O<sub>2</sub>-Gabe). Als ergänzende Untersuchung wird ein isoelektrisches EEG benötigt. Sollte die Durchführung eines solchen aufgrund des Verletzungsmusters des Patienten nicht möglich sein, kann auch eine transkraniale Dopplersonographie bzw. farbcodierte Duplexsonographie oder eine Computertomographie-Angiographie zur Feststellung eines kranialen Zirkulationsstillstandes angewandt werden. (14)

In Österreich besteht eine Widerspruchslösung. Das bedeutet, dass jedem hirntoten Patienten, zumindest aus rechtlicher Sicht, Spenderorgane entnommen werden können, außer es wurde zu Lebzeiten ein Widerspruch diesbezüglich abgegeben. Eine solche Widerspruchslösung existiert in unterschiedlichen Formen in weiteren Ländern wie Belgien, Finnland, Griechenland, Italien, Polen und Spanien. Der Vorteil darin besteht aus medizinischer Sicht in einer größeren Verfügbarkeit von Spenderorganen. Anders verhält sich dies in Ländern wie: Australien, Dänemark, Deutschland, Großbritannien, Irland, Japan, Niederlande, Schweiz, Türkei und den USA. Dort verwendet man, abermals in unterschiedlicher Form, das System der Zustimmungslösung. Das bedeutet, dass Organe auch bei hirntoten Patienten nur bei zum Beispiel Vorliegen eines Organspenderausweises entnommen werden können. Diese Zustimmung muss also schon zu Lebzeiten und von jedem Spenderwilligen selbst beantragt werden, was natürlich ein kleineres Kontingent von verfügbaren Organen zur Folge hat. (15)

Diese zwei sehr unterschiedlichen Systeme rühren aus der Frage, ob man von einer ethischen Pflicht zur Organspende sprechen kann. Diese Frage muss jeder für sich beantworten und ist daher schwierig als Regelung für Viele festzusetzen. Aus ethischer Sicht ist aber die Bereitschaft zur Organspende, sowohl als Leichen- als auch als Lebendspende, unbedingt zu fördern. Nicht zu vergessen ist auch die ethische Verantwortung des Organempfängers vor und nach einer Transplantation mitzuarbeiten und sein Verhalten in Anbetracht des allgemeinen Organmangels den Gegebenheiten anzupassen. (16)

### **1.3.2 Lebendspende**

Bei den Organen Niere und Leber ergibt sich die Möglichkeit einer Lebendspende. Das Outcome für den Organempfänger ist, wie Tabelle 5 zeigt, bei der Lebendspende signifikant höher.

		1-Jahres-Überleben		5-Jahres-Überleben	
		2001-2002	2002-2003	1997-2002	1998-2003
Niere	Lebend-Spender	94,3 %	94,6 %	78,6 %	79,2 %
	Hirntod-Spender	88,7 %	89,0 %	65,7 %	66,2 %
Leber	Lebend-Spender	79,3 %	80,1 %	78,1 %	71,2 %
	Hirntod-Spender	80,6 %	81,4 %	64,1 %	65,4 %

**Tabelle 5: Das Outcome von Lebendspenden gegenüber Hirntod-Spenden**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (17)

Aufgrund der Vielzahl der Spendernierenbedürftigen und den damit verbundenen langen Wartelisten auf eine solche, wählen viele Patienten, so ein Spender vorhanden, die Möglichkeit der Lebendspende. Ein Großteil der Lebendspender kommt aus dem direkten Kreis Blutsverwandter und bringt somit meist eine hohe HLA-Übereinstimmung mit sich. Doch auch Organspenden zwischen Eheleuten mit keiner hohen HLA-Übereinstimmung sind häufig. In einer Studie von 2005 konnte nachgewiesen werden, dass das Langzeit-Outcome von Empfängern aus dem Blutsverwandtenkreis, wie Eltern oder Nachkommen, vergleichbar ist mit dem der Empfänger aus dem Nicht-Verwandtenkreis (18). In einer weiteren Studie von 1995 erkannte man, dass das Outcome von Patienten mit Empfang einer Lebendspende aus dem nicht Blutsverwandtenkreis über dem der Empfänger von hirntoten Spenderorganen lag (19). So kann man annehmen, dass das schlechtere Outcome bei hirntoten Spenderorganen nicht alleine an der schlechteren HLA-Übereinstimmung liegen kann.

Zusätzlich zu bedenken sind Faktoren, wie Alter, Geschlecht, ethnischer Ursprung, terminales Serum-Kreatinin, eventueller Bluthochdruck sowie die eigentliche Todesursache. Tatsache ist, dass hirntote Spender meist älter sind als Lebendspender, was ein schlechteres Outcome mit sich bringt (17). Trotzdem zeigt sich aber, dass Patienten mit einer Lebendspende eine höhere Überlebensrate haben, als Patienten mit einer Leichenspende in derselben Altersgruppe (19). Das ergibt sich aus der durchschnittlich länger andauernden Ischämiezeit bei Leichenspenden aufgrund des nicht vorhersagbaren Zeitpunktes der Transplantation und dem Transport des Spenderorgans. Weiters aber auch aus der Möglichkeit der guten Vorbereitung auf den Eingriff, sowohl auf Seiten des Spenders als auch des Empfängers. Als zusätzliche Motivation zur Lebendspende einer Niere zählt die Möglichkeit einer laparoskopischen Nephrektomie, die Rehabilitationszeit des Spenders postoperativ verkürzt (20).

## 1.4 Grundlagen der energiereichen Phosphate

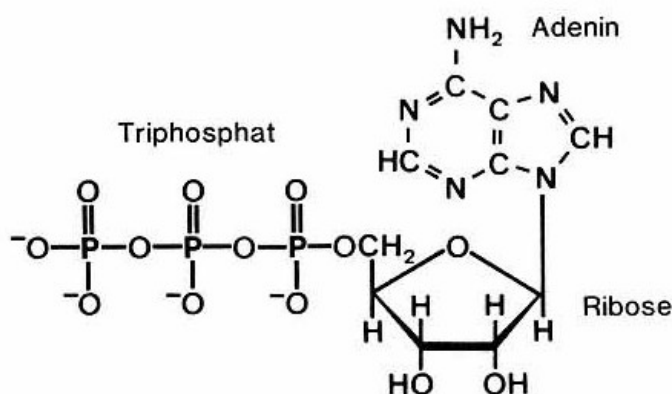
Um den ischämischen Gewebsschaden und die daraus folgende Verwendbarkeit von Spen-derorganen zu prüfen, dienen die energiereichen Phosphate Adenosintri-, -di-, und -monophosphat (ATP, ADP, AMP) sowie deren berechnete Relation in Form des Energy Charge (EC) als gute Marker. Der EC berechnet sich hierbei durch folgende Formel:

$$EC = \frac{[ATP] + \frac{1}{2}[ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$$

### 1.4.1 Die Biochemie der energiereichen Phosphate

#### 1.4.1.1 Bereitstellung von Energie

Um biochemische Abläufe anzutreiben benötigt der Körper Energie. Diese wird vor allem in Form von Nahrung, also Proteinen, Lipiden und Polysacchariden geboten. Der menschliche Körper hat es im Laufe der Evolution geschafft, dieses Angebot sehr effizient zu nutzen und aber auch – in Form von sogenannten Trägermolekülen – zu speichern. Das wichtigste Trägermolekül von körperlicher Energie stellt sich als das Nukleotid-Koenzym ATP dar. Die Spaltung von ATP ist exergon und kann somit biochemisch endergone Abläufe wie Biosynthesen oder Bewegungs- und Transportprozesse antreiben. In Abbildung 3 ist die Strukturformel von ATP dargestellt. Von Bedeutung ist dabei, dass die drei Phosphate positiv und die dazugehörigen Sauerstoffatome negativ geladen sind. Die negativ geladenen Sauerstoffatome stoßen sich untereinander ab und fördern so die Abspaltung der Phosphate von ATP zu ADP.



**Abbildung 3: Strukturformel von ATP**

Quelle: (21)

Ein weiterer Grund für die Exergonität der Spaltung ist, dass bei Abspaltung eines Phosphatrestes, dieses besser hydratisiert sowie auch mesomeriestabilisiert ist, als der verbleibende und daraus entstehende ADP-Komplex. Die Abspaltung eines Phosphatrestes von ATP zu ADP bei normalen Zellbedingungen bringt eine Energie von 30 bis 35 kJ/mol mit sich. (22)

#### *1.4.1.2 Speicherung von Energie*

Die oben bereits genannten Energielieferanten – Proteine, Lipide, Polysaccharide – werden in mehreren Schritten zum endgültigen Energiespeicher ATP umgewandelt.

Als erstes beginnt der Körper mit der Zersetzung der Nahrung außerhalb der Zellen. Proteine werden zu Aminosäuren, Lipide zu Fettsäuren und Glycerin, Polysaccharide zu Glukose zersetzt.

Im zweiten Schritt, der im Cytosol abläuft, kommt es zum wichtigen Vorgang der Glykolyse. Dabei wird in zehn Schritten, unter Verwendung vielfacher Enzyme, jedes Glukosemolekül zu jeweils zwei Pyruvatmolekülen umgebaut. Im 7. Schritt dieser Glykolyse wird beim Umbau von 1,3-Bisphosphoglycerat zu 3-Phosphoglycerat einem ADP ein Phosphatrest angehängt und ATP entsteht. Unter Verwendung von zwei ATP können aus einer Glukose sodann insgesamt vier ATP produziert werden. Zusätzlich dazu wird in diesem Verlauf ein weiteres Energieträgermolekül, NADH, aktiviert. Im Rahmen der gesamten Glykolyse wird kein Sauerstoff benötigt. (23)

Der größte Teil der Energiegewinnung läuft aber als dritter Schritt über die sogenannte chemiosmotische Kopplung ab. Dieser Vorgang findet in der Zelle in den Mitochondrien statt. Dort wird der Glukosestoffwechsel zu Ende zu Ende geführt. Als Brennstoff wird hierbei das bereits aus der Glukose metabolisierte Pyruvat sowie Fettsäuren verwendet. Aus diesen wird das Stoffwechselintermediat Acetyl-CoA gebildet. Dieses wird über den Zitratzyklus oxidiert und bildet das bereits genannte Trägermolekül NADH, welches ein Elektron an die intramembranöse Elektronentransportkette abgibt. NADH wird dadurch zu  $\text{NAD}^+$  metabolisiert, wobei  $\text{O}_2$  benötigt wird, um die überschüssigen Elektronen und  $\text{H}^+$ -Ionen zu  $\text{H}_2\text{O}$  zu verstoffwechseln. Die Elektronentransportkette befördert ihrerseits über Pumpen  $\text{H}^+$ -Ionen nach außen und bildet so in der Zelle einen Protonengradienten. Ein solcher Gradient birgt immer ein energetisches Potential, welches in diesem Fall genutzt wird, um die ATP-Synthase zu betreiben. Da es sich bei der Abgabe der Elektronen um

einen chemischen und durch den Aufbau eines Protonengradienten um einen osmotischen Prozess handelt, spricht man von einer chemiosmotischen Kopplung (24).

Bei der ATP-Synthase wird nun in weiterer Folge, angetrieben durch den  $H^+$ -Gradienten, ADP durch Zufügen eines Phosphat-Restes zu dem energetisch wertvollen ATP umgewandelt. Da für diesen Ablauf  $O_2$  von Nöten ist, spricht man von oxydativer Phosphorylierung. Pro NADH ergeben sich in etwa 2,3 mol ATP, was einem Wirkungsgrad der oxydativen Phosphorylierung von 60 % bedeutet. (25)

Die ATP-Synthase kann zudem in zwei Richtungen arbeiten. So kann sie einerseits ADP zu ATP synthetisieren. Bei Energiemangel kann aber auch ATP unter Freisetzung von Energie zu ADP hydrolysiert werden. Auch das ADP kann von seinen zwei verbliebenen Phosphatresten noch ein Phosphat abgeben, was zu dem Nukleotid AMP führt. Die Phosphatgruppe des AMP kann aber nicht mehr gespalten werden, da hier das energetische Potential zur Spaltung zu gering ist. (23)

Bei einem ischämischen Prozess kommt es zu einer  $O_2$ -Unterversorgung. Es kann durch den oben beschriebenen Weg kein ATP mehr synthetisiert werden und es kommt immer mehr zu der energetisch ungünstigen ATP-Hydrolyse, wodurch ATP aufgebraucht wird und ADP gebildet wird. Bei Normalzustand besteht in der Zelle eine 10-fach höhere ATP- als ADP-Konzentration. Dieser Wert verschiebt sich allerdings bei Sauerstoffmangel, sowie es bei einem ischämischen Schaden bei Spenderorganen der Fall sein kann. (23)

#### **1.4.2 Die energiereichen Phosphate zur Bewertung der Transplantatsfunktion**

Anhand einer Studie wurde 1988 eine unmittelbare Korrelation zwischen der Überlebensrate und dem Gehalt an energiereichen Phosphaten bei Patienten mit erfolgter Lebertransplantation festgestellt. Bei 25 humanen Spenderlebern wurden unmittelbar vor der Implantation Gewebsbiopsien abgenommen und die Adenin-Nukleotide mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (HPLC) analysiert. Bei den zwanzig erfolgreichen Transplantationen konnten im Vergleich zu den fünf erfolglosen Transplantationen signifikant höhere ATP- ( $4.22 \pm 2.87$  vs.  $0.71 \pm 0.69$  nmol/mg Prot), ADP- ( $8.75 \pm 2.96$  vs.  $4.49 \pm 1.95$  nmol/mg Prot) sowie EC-Werte ( $0.43 \pm 0.15$  vs.  $0.21 \pm 0.04$ ) festgestellt werden. Von 20 erfolgreichen Transplantationen erholten sich 15 mit einem ATP von über 2 nmol/mg Prot und einem EC von über 0,3 gut. Fünf der 20 Patienten benötigten, bei ei-

nem ATP von  $0.70 \pm 0.39$  nmol/mg Prot und einem EC von  $0.20 \pm 0.03$ , eine verlängerte Erholungszeit mit Komplikationen wie Infektionen und Hyperbilirubinämie. Von den fünf erfolglosen Transplantationspatienten erhielten drei eine weitere Transplantation und zwei verstarben. (26)

In einer weiteren Studie im Jahre 2000 wurde ein Zusammenhang zwischen einer verlängerten Ischämiezeit und einem Abfall der Adenin-Nukleotide nach erfolgter Reperfusion bei Lungentransplantation hinterfragt und bestätigt. Rattenlungen wurden jeweils 0, 6, 9 und 12 Stunden kalter Ischämie ausgesetzt und der Gehalt an energiereichen Phosphaten gemessen. Der totale Adenin-Nukleotid Gehalt (TAN) sowie der ATP Gehalt des Gewebes stellten sich als sensitive Indikatoren zur genannten Fragestellung heraus (Tabelle 6). (27)

		Ischämiezeit			
		0 h	6 h	9 h	12 h
Nach Reperfusion	TAN	4,75±0,15	4,52±0,56	3,11±0,42	1,92±0,15
	ATP	2,87±0,19	2,68±0,21	1,71±0,23	1,10±0,11
	ADP	1,18±0,11	0,97±0,08	0,98±0,07	0,53±0,06
	AMP	0,61±0,07	0,79±0,13	0,53±0,11	0,29±0,03

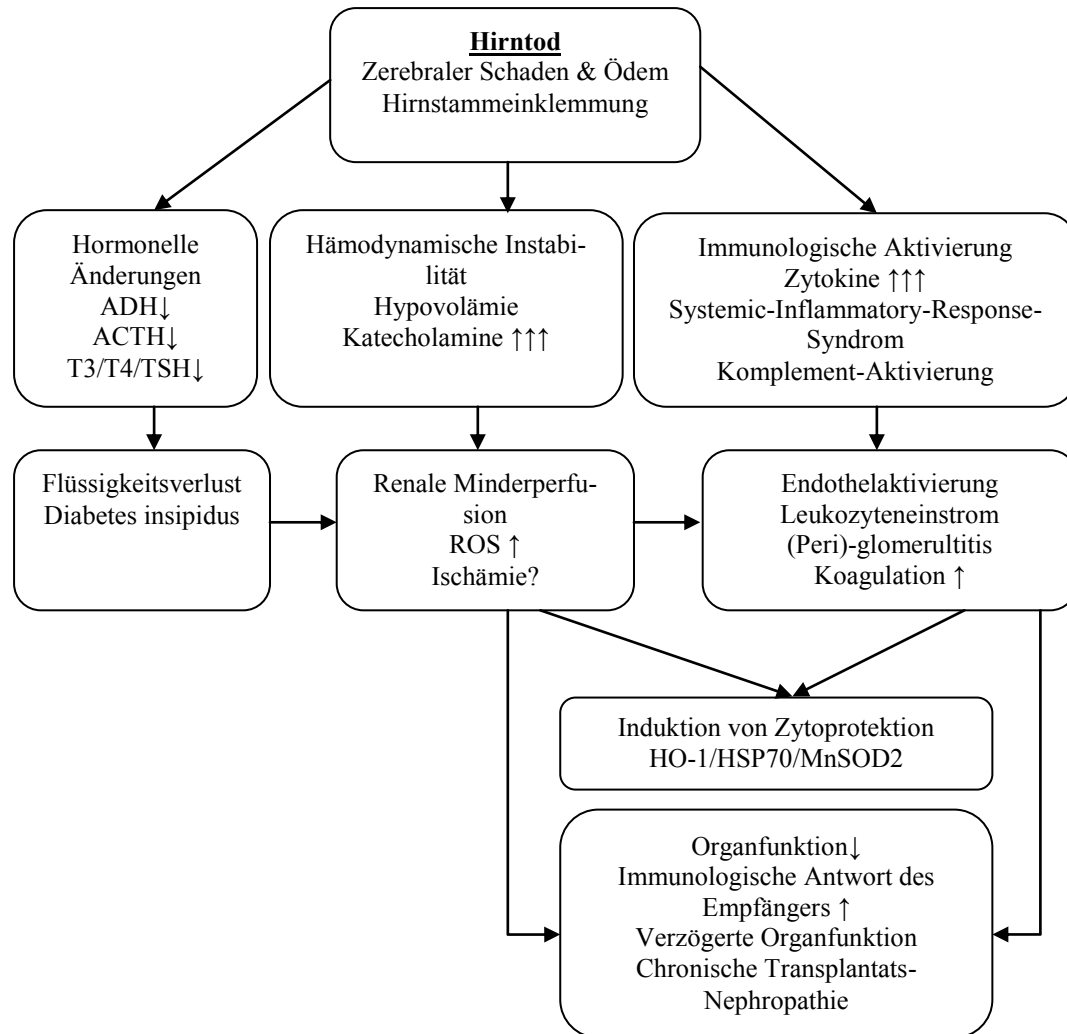
**Tabelle 6: Gehalt der energiereichen Phosphate von Rattenlungen nach 0, 6, 9 und 12 Stunden Ischämie (Angabe in  $\mu\text{mol/g dw}$ )**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (27)

In zahlreichen weiteren Studien wird eine direkte Korrelation zwischen verlängerter Ischämie, sinkendem Gehalt an energiereichen Phosphaten sowie Verschlechterung des Patientenoutcomes belegt und kann somit als gegeben hingenommen werden.

## 1.5 Pathophysiologische Veränderungen beim Eintreten des Hirntodes

Beim Eintreten des Hirntodes sind bereits viele pathophysiologische Vorgänge vor sich gegangen, die einer Grunderkrankung wie einem zerebralen Trauma oder einem hämorrhagischen Insult folgen. Bei Steigen des intrakraniellen Druckes (ICP) folgt eine unmitelbare Kaskade von systemischen und hormonellen Veränderungen (Abbildung 4).



**Abbildung 4: Systemische und hormonelle Antwort bei Hirntod**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (17)

### 1.5.1 Häodynamische Veränderungen

Als unmittelbare Folge des zerebralen Schadens steigt der ICP, was zu einer zusätzlichen Schädigung des Hirns führt. Die führt zu einer vermehrten Aktivierung des Parasympathikus, was seinerseits eine Verringerung des Blutdrucks zur Folge hat. Der ansteigende Hirndruck bringt weiters eine Kompression des Hirnstamms im Foramen magnum mit sich. Dadurch wird die arterielle Sauerstoffversorgung des Hirns reduziert, was zu einer zusätzlichen Schädigung führt. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer Unterversorgung der Pons und eine Sympathikusaktivierung folgt. Gemeinsam mit der gesteigerten Parasympathikusaktivität führt dies zum sogenannten Cushing-Reflex. Bei Steigerung des Hirndrucks versucht der Körper über eine Steigerung des systemischen Blutdrucks eine

adäquate Durchblutung des Hirns zu ermöglichen. Gleichzeitig kommt es zu einer Bradykardie sowie unregelmäßiger Atmung. Wenn aufgrund der andauernden Ischämie die Funktion des Hirnstamms und damit die parasympathische Aktivität aussetzen, beginnt eine massive, alleinige Aktivierung des Sympathikus, einhergehend mit einem Katecholaminansturm. Dabei kommt es zu einem 100- bis 1000-fachen Katecholaminanstieg gegenüber der physiologischen Aktivität. Hierbei ergibt sich eine direkte Korrelation zwischen Schnelligkeit des ICP-Anstiegs und Menge an Katecholaminausstoß. (17)

Auch ein erhöhter myokardialer Adrenalinausstoß bei beginnendem Hirntod konnte nachgewiesen werden, was zu einer Myozytenschädigung führt. (28)

Der massive Katecholaminausstoß führt zu einer Verengung der Gefäße und daraus folgend auch zu einer Minderdurchblutung der Peripherie und des Splanchnikusgebietes. So sinkt etwa der renale Blutfluss um das 2,4-fache. (17)

Nach einer Zeit nimmt die sympathische Aktivität ebenfalls ab. Der Blutdruck und die Herzfrequenz normalisieren sich oder sinken unter die Normwerte ab, was oft einer hämodynamischen Unterstützung bei potentiellen Organspendern bedarf. (17)

### **1.5.2 Hormonelle Veränderungen**

Abgesehen von direkt für die Hämodynamik verantwortlichen Hormonen, den Katecholaminen, kommt es bei Eintritt des Hirntodes auch zu anderen hormonellen Veränderungen.

Bei einer Untersuchung von 39 hirntoten Patienten konnte ein teilweise vorhandener Blutfluss in Hypothalamus und Hypophyse nachgewiesen werden, wobei die hormonelle Sekretionsfunktion des Hypothalamus massiv eingeschränkt war, während die der Hypophyse teilweise gar keine Veränderung mit sich brachte. Auch die histologische Untersuchung von hypothalamen Neuronen brachte kein einheitliches Bild mit sich. Sowohl kaum wahrnehmbare, zerstörte Zellen als auch völlig funktionstüchtige konnten nachgewiesen werden. (29)

Die Freisetzung von hypophysären Hormonen wie Adrenokortikotropin und Vasopressin sinkt kurze Zeit nach festgestelltem Hirntod kontinuierlich. Ebenso kommt es zu einem signifikanten Absinken von zirkulierenden Hormonen wie Trijodthyronin, Thyroxin und auch Glukagon Stunden nach eingetretenem Hirntod. (30)

Abhängig von der verminderten Hypophysenfunktion und dem damit verbundenen Absinken von Vasopressin, kommt es bei 78 % der hirntoten Patienten zu einer Entwicklung eines Diabetes insipidus (Abbildung 4) (31). Ebenso bekannt ist ein, durch den Stress sich entwickelnder, „diabetes of injury“, der durch eine massive Glukoneogenese und eine gleichzeitige Insulinresistenz entsteht (17). Dies führt unter anderem zu einer Belastung des Pankreas.

## 2 METHODEN

### 2.1 Literaturrecherche

Zur Literaturrecherche wurde die bibliographische Literaturdatenbank PubMed herangezogen.

#### 2.1.1 Suchstrategie PubMed

	Stichwörter
1	(transplantation[Title/Abstract]) AND "energy charge"[Title/Abstract]
2	(transplantation[Title/Abstract]) AND "high-energy phosphates"[Title/Abstract]
3	(transplantation[Title/Abstract]) AND "adenine nucleotide"[Title/Abstract]
4	(transplantation[Title/Abstract]) AND "brain dead"[Title/Abstract]
5	(transplantation[Title/Abstract]) AND "living related"[Title/Abstract]
6	(transplantation[Title/Abstract]) AND "living unrelated"[Title/Abstract]
7	("brain death"[Title/Abstract]) AND catecholamine[Text Word]
8	("brain death"[Title/Abstract]) AND hormone[Text Word]
9	("brain death"[Title/Abstract]) AND endocrine[Text Word]
10	"pancreas transplantation"[Title]
11	"milan criteria"[Title]

#### 2.1.2 Ergebnisse

Unter Verwendung der angegebenen Stichwörter im Literaturverzeichnis PubMed konnten 26, für den Inhalt dieser Arbeit verwendbare, Referenzen eruiert werden. Gegliedert wurden diese Referenzen anhand der zu untersuchenden Organe: Leber (12 Arbeiten), Pankreas (5 Arbeiten), Niere (4 Arbeiten) und Herz (5 Arbeiten).

### 2.2 Messung der energiereichen Phosphate und des zellulären Energiestatus'

Der zelluläre Energiestatus wurde mittels HPLC (32-34) gemessen. Die Gewebestücke wurden mittels einer Gefrierzange (flüssiger Stickstoff) gewonnen und mittels eines Dismembranators homogenisiert. Die Zellen wurden mit 400 µL Perchlorsäure (0,4 mol/L) deproteinisiert. Nach der Zentrifugierung (12.000 g) wurden 150 µL des Säureextrakts mit

15-20 µL Kaliumkarbonat (2 mol/L bei 4 °C) neutralisiert. Der nach der Zentrifugierung erhaltene Überstand (20 µL Injektionsmenge) wurde für die HPLC-Analyse verwendet. Das Pellet des Säureextrakts wurde in 1 mL Natronlauge (0,1 mol/L) aufgelöst und weiters 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung zur Proteinbestimmung verdünnt. Der Proteingehalt wurde mittels BCA-Methode (nach Pierce) bestimmt.

Die Trennung der energiereichen Phosphate wurde auf einer Hypersil ODS Säule (5 µm, 250 mm x 4 mm Innendurchmesser), unter Verwendung eines L-2200 Autosamplers, zwei L-2130 HTA Pumpen und einer L-2450 Diodendetektortafel (alle VWR Hitachi), durchgeführt. Die Detektorsignale (Absorption bei 214 nm sowie 254 nm) wurden mittels eines PCs erfasst. Das Programm EZchrom Elite (VWR) wurde für die Datenerfassung und –analyse verwendet. Zusätzlich zu den erhaltenen Nukleotid-Konzentrationen wurde der EC der Zellen unter Zuhilfenahme der folgenden Formel berechnet:  
$$EC = (ATP + 0,5 ADP)/(AMP + ADP + ATP).$$

## **2.3 Tierversuch**

Quelle: (1)

### **2.3.1 Versuchsaufbau**

Es handelte sich um einen Tierversuch mit Steirischen Edelschweinen, *suus domesticus*, an denen der Energiestatus der Organe Leber, Pankreas, Niere und Herz bei hirntoten, NHB und lebenden Schweinen untersucht wurde.

Das Gewicht der Versuchstiere betrug  $35 \pm 3,2$  kg, das Alter auf humanes Lebensalter umgerechnet war ca. 25 Jahre.

Der Tierversuch umfasste 18 Versuchstiere, wobei bei 6 Versuchstieren (hirntote Gruppe) nach 10 Stunden Hirntod Zellproben aus den genannten Organen entnommen wurden. Da es in der humanen Medizin zeitlich nicht genau nachvollziehbar ist, wie lange vor abgeschlossener Hirntotdiagnostik ein Patient hirntot ist und er als „Multiorganspender“ deklariert wird, wurde der Zeitraum mit 10 Stunden festgesetzt. Diese Zeitspanne beruht auf Berechnungen, welche an der Medizinischen Universität Graz aus den Daten der letzten 30 humanen Organspender errechnet wurde. In dieser Zeit wurden stündlich 10 mL Blut abgenommen, um den oxydativen Stress und den „autonomic storm“ charakterisieren zu

können. Nach 10 Stunden Hirntod wurde eine Multiorganentnahme (zuerst Herz dann Abdominalorgane) durchgeführt und der Einfluss des Hirntodes auf die einzelnen Organe histologisch und immunhistochemisch dokumentiert. Bei der NHBD-Gruppe (n=6) wurden nach 10-minütiger ventrikulärer Fibrillation mit folgender 30-minütiger Reanimation nur die abdominalen Organe entnommen. Bei weiteren 6 Tieren der Lebendgruppe wurden die Organe unmittelbar unter Vollnarkose entnommen.

Während des gesamten Zeitraumes wurden die Spendertiere intensivmedizinisch und von Seiten der in diesen Versuch eingebundenen Chirurgen betreut.

### **2.3.2 Prämedikation**

Die Prämedikation wurde ca. 20 Minuten vor dem geplanten Venenweg intramuskulär verabreicht und setzte sich wie folgt zusammen:

- 1 mL zu 10 mg Diazepam (Gewacalm®)
- 3 mL zu 120 mg Azaperon (Stresnil®)
- 3-5 mL zu 500 mg Ketamin (Ketasol®)

Bei eventueller unzureichender Sedierung (z.B. Fehlpunktion oder Verlust der Kanüle) wurde die Prämedikation mit der halben Dosis wiederholt.

### **2.3.3 Einleitung der Narkose**

Nach ausreichender Hautdesinfektion wurde ein Venenweg gelegt.

Bei ausreichender Sedierung wurde der Venenweg entweder in der Transportbox, am Boden oder bereits am OP-Tisch an einer Ohrvene gelegt.

Nach ausreichender Präoxygenierung fand die Einleitung wie folgt statt:

- Fentanyl 2-3 µg/kg/KG
- Propofol 1 % (Diprivan®) 3 mg/kg/KG Bolus
- Intubation: Spiraltubus 6,0 - 7,0 ID, langer Millerspatel, Mandrin
- Cis-Atracurium (Nimbex®) 0,15 mg/kg/KG Bolus (nach der erfolgreichen, überprüften Intubation)

### **2.3.4 Beatmung (35 kg)**

Die Beatmung wurde mit einem Tubus 6,0 - 7,0 Spiral, volumenkontrolliert, Ratio 1:2 mit einem Atemminutenvolumen von 8 mL/kg/KG durchgeführt. Die genaue Adaptation der Beatmungsparameter wurde CO<sub>2</sub>-orientiert vorgenommen, um eine Hypo- bzw. Hyperventilation zu vermeiden.

### **2.3.5 Aufrechterhaltung der Narkose**

Zur Aufrechterhaltung der Narkose waren 2 Venenwege erforderlich, wobei über einen Venenweg Volumen verabreicht wurde, der zweite zur Aufrechterhaltung der Narkose diente. An Volumen wurden ca. 10 mL/kg/KG in der 1. Stunde, dann 3 mL/kg/KG/h weiter bei nicht eröffneten Körperhöhlen, bei offenem Abdomen 10 mL/kg/KG/h weiter wie folgt verabreicht:

Volumen:

- Elo-Mel Paed 250 mL
- Ringer 500 mL
- Weiter mit Ringer-Lösung falls erforderlich

Perfusoren:

- Propofol (Diprivan®) 1 % 6-10 mg/kg/KG/h
- Remifentanyl (Ultiva®) 1 mg ad 50 mL NaCl 0,9 % (20 µg/mL)  
0,08-0,1 µg/kg/KG/h

Wahlweise:

- Sevofluran (SEVOfluran®) 2 % ET statt Propofol wie oben angeführt

### **2.3.6 Monitoring**

Nach Narkoseeinleitung wurde nach sorgfältiger Präparation des V. jugularis interna ein trilumiger Cava Katheter gesetzt, um einerseits einen zentralvenösen Zugang zur eventuell notwendigen Katecholamingabe, sowie zur Messung des ZVD zur Verfügung zu haben. Das Monitoring wurde während der gesamten Narkose bis zur Sakrifizierung wie folgt durchgeführt:

- Pulsoxymetrie am Schwanzstummel

- Blutdruck invasiv (nach Einleitung, während Aufrechterhaltung) A. femoralis sinister sive dexter
- Kapnometrie
- BZ Kontrollen mit BGA/OP-Profil nach Bedarf, 1-2 mal/Stunde
- Temperatursonde unter dem Versuchstier (Trend ohne Mitdokumentation)
- EKG falls Herzfrequenz über Pulsoxymetrie oder art. Blutdruck nicht ausreichend
- ZVD Messung über Cava Katheter

### **2.3.7 Ausrüstung und Bedarfsmedikation**

Narkosemaschine: Dräger Sulla 808V

Cardiicap Datex für art. Blutdruck und ZVD

Perfusoren Fa. Braun Secura FT und Combimat 2000

Vaporen: Draeger

Blutgasanalyse: GEM premier 3000 von Instrumentation Laboratory

Notfallmedikamente:

- Atropin 0,01 mg/kg/KG
- Robinul 1 Amp. = 1 mL = 0,2 mg
- Efedrin 1 Amp. = 1 mL = 50 mg (1:10 verdünnt 1 mL = 5 mg)
- Neosynephrine 1 mL = 100 µg
- Arterenol 3 mg auf 50 mL NaCl 0,9 % als Perfusor
- Esmolol Ampullen zu 100 mg

### **2.3.8 Induktion des Hirntodes**

Nach Einleiten der Narkose wurde unter Aufrechterhaltung derselben an den Spendertieren mittels Schädel-Trepanation ein Loch in der rechten frontoparietalen Region geschaffen. Danach wurde ein Katheter in den Epiduralraum vorgeschoben und eine Sonde zur kontinuierlichen Messung des ICP verwendet. Der Ballon des Katheters wurde für 30 Minuten kontinuierlich mit insgesamt 50 mL Flüssigkeit gefüllt. 60 Minuten danach wurde die Narkose unterbrochen und weitere 60 Minuten danach eine Hirntoddiagnostik durchgeführt.

### **2.3.9 Hirntoddiagnostik**

Die Hirntoddiagnostik beinhaltet das Aussetzen des Corneal- und des Hustenreflexes sowie ein Sistieren der Spontanatmung, ein positiver Apnoe-Test und ein Nulllinien-EEG. Die Beurteilung des EEG wurde mit Hilfe eines Neurologen durchgeführt. Erst bei einem durch den Neurologen bestätigten isoelektrischen EEG sowie bei einem  $\text{CO}_2$  von  $<60$  mmHg beim Apnoe-Test konnte die Diagnose „Hirntod“ gesetzt werden. Das Tier konnte zu diesem Zeitpunkt keine Schmerzen mehr empfinden, wurde jedoch intensivmedizinisch weiter betreut, wie beim humanen Multiorganspender üblich, um etwaige Organschäden zu vermeiden.

### **2.3.10 Aufbau des NHBD-Modells**

Unter Vollnarkose wurde bei den Schweinen ein subkostaler Schnitt gesetzt und das Perikard eröffnet. Mittels 9 Volt Gleichstrom und Unterbrechung der Narkose wurde für 10 Minuten eine ventrikuläre Fibrillation ohne kardialen Auswurf induziert. Die Herzfunktion wurde weiterhin monitorisiert. 10.000 I.E. Heparin wurden verabreicht und eine 30-minütige mechanische und medikamentöse Reanimation folgte. Ein neurologischer Status wurde erhoben und danach mittels medianer Laparotomie die abdominellen Organe entnommen. Vor der Induktion der Fibrillation und nach Reanimation wurden Blutproben zur Erfassung des Blutbildes und des Routinelabors abgenommen (siehe 2.3.14).

### **2.3.11 Intensivmedizinische Spenderpflege**

Der Flüssigkeitsbedarf wurde nach der 4/2/1 Regel ermittelt (z.B. für ein 30 kg schweres Schwein 70 mL Elomel Isoton in der ersten Stunde Erhaltungsbedarf). Weiters erfolgte eine Bilanzierung mittels suprapubischen Harnkatheters. Ebenso erfolgte eine stündliche Blutzuckermessung mit gegebenenfalls notwendiger Blutzuckereinstellung nach den allgemeinen Richtlinien der Intensivmedizin (Gabe von zuckerhaltigen Infusionslösungen wie z.B. Elomel Päd, sowie Einstellung eines eventuell erhöhten Blutzuckerspiegels mit Insulin).

Während der gesamten Zeit des Versuchs erfolgte die maschinelle Beatmung mit einer Beatmungsmaschine vom Typ Sulla 808V. Der Beatmungsmodus war volumenkontrolliert und das Atemminutenvolumen wurde bei etwa 8 mL/kg/KG gehalten, jedoch an die endtidale  $\text{CO}_2$ -Konzentration angepasst, sodass es weder zu einer Hypo- noch Hyperventilation kommen konnte.

Eventuell auftretende Schwankungen des Blutdruckes wurden mit der in der Intensivmedizin üblichen Therapie (Anwenden von antihypertensiven Medikamenten oder Katecholaminen) behandelt. Bei schwerwiegenden kardiorespiratorischen Notfällen (z.B. Kammerflimmern, nicht beherrschbare Tachykardien, etc.) wurde aus ethischen und moralischen Gründen der Tierversuch abgebrochen und das bereits hirntote Versuchstier sakrifiziert.

### **2.3.12 Entnahme des Herzens vom Spendertier**

Gleich den Standards der humanen Multiorganentnahme erfolgte die Präparation der einzelnen Organe gleichzeitig, jedoch wurden die thorakalen Organe, in diesem Fall nur das Herz vor Leber, Pankreas und Nieren entnommen. Zur Herzentnahme erfolgte der Zugang mittels medianer Sternotomie. Nach der Perikarderöffnung und Anschlingen der Aorta erfolgte das Anschlingen und Nahtvorlegen für die untere und obere Hohlvene gefolgt von der Kanülierung für die Kardioplegie. Nun wurde gewartet bis das Abdominalteam die Kanülen für die Perfusion eingebracht hatte. Die Heparinabgabe wurde von einer 2 minütigen Pause gefolgt, danach wurde die Aorta abgeklemmt und die Kardioplegie bei 4 °C mit 1.000 mL Celsior-Lösung (Imtix-SangStat, Lyon, Frankreich) für 10 Minuten gestartet. Die obere Hohlvene wurde legiert, die untere Hohlvene durchgeschnitten danach die A. pulmonalis im linken Hauptstamm eröffnet. Nach ca. 10 minütiger Kardioplegie folgte die Durchtrennung der restlichen Strukturen. (Obere Hohlvene – Aorta – A. pulmonalis – linker Vorhof)

Nun erfolgte die Verpackung des Spenderorgans in der Preservationslösung. Unmittelbar vor und nach Perfusion sowie – zeitlich der humanen Transplantation entsprechend – 4 Stunden nach Perfusion wurden Biopsien entnommen.

#### *2.3.12.1 Aufarbeitung des explantierten Herzens*

Mit einer Gefrierzange wurde aus dem explantierten Herz Gewebe entnommen und in Stickstoff gefroren. Aus diesem Gewebe wurden die energiereichen Phosphate (ATP, ADP, AMP, daraus resultierend EC) und deren Abbauprodukte (Hypoxanthin, Xanthin) sowie Phosphokreatin im Gewebe als Zeichen von Vitalität und Zellfunktionalität bestimmt. Weiters wurde Gewebe in Formalin eingelegt, in Paraffin eingebettet, mit einem Mikrotom geschnitten und der weiteren histologischen und immunhistochemischen Diagnostik zugeführt. Aus dem Überstand der Preservationslösung wurden Proben aliquotiert.

### **2.3.13 Entnahme der abdominalen Organe**

Die Entnahme der Bauchorgane erfolgte über eine mediane Laparotomie. Nach der Mobilisation des Colon ascendens und Duodenum wurde die Aorta mit ihrer Aufteilung in die Aa. iliacae communes sowie die V. cava dargestellt. Die Aorta wurde zweimalig angeschlossen. Nach einmaligem Verabreichen von 10.000 I.E. Heparin i.v. (siehe Herzentnahme) wurde die Aorta kanüliert. Die V. cava inferior wurde breit eröffnet um einen guten Abfluss zu gewährleisten. Die Aorta wurde subdiaphragmal abgeklemmt. Die Perfusion begann mit 3.000 mL UW-Lösung (Viaspan®, Du-Pont Pharmaceuticals, DE, USA) bei der hirntoten und lebenden Spendergruppe sowie mit 10.000 mL HTK-Lösung (Custodiol®, Dr. F. Köhler Chemie, Alsbach-Hähnlein, Deutschland) bei der NHBD-Gruppe bei jeweils 4 °C. Gleichzeitig zur Perfusion wurde bei der hirntoten und lebenden Spendergruppe lokal mit Eis und kaltem Eiswasser gekühlt. Nach Beenden der Perfusion wurden die Bauchorgane in folgender Reihenfolge explantiert: Leber, Pankreas, Nieren. Dafür wurde zuerst die V. cava bis zur Leber hin dargestellt. Die linke und die rechte Nierenvene wurden an ihrer Mündung in die V. cava abgesetzt. Zusätzlich wurde die V. cava infrahepatisch durchtrennt. Nun wurde die Aorta ventral eröffnet und das Aortenlumen inspiziert. Nach Abklärung der Anatomie wurden die Nierenarterien mit einem Patch ausgeschnitten und wenige Zentimeter freipräpariert. Für die Entnahme der Leber wurde nun das Ligamentum hepatoduodenale präpariert und die A. hepatica, die V. portae und der Gallengang durchtrennt. Nach Durchschneiden der suprahepatischen V. cava konnte die Leber von ihren Verwachsungen mit dem Zwerchfell gelöst und entnommen werden. Die Pankreasentnahme wurde in No-touch-Technik durchgeführt. Das Pankreas wurde von lateral nach medial mobilisiert, die A. mesenterica superior sowie der Truncus coeliacus wurden mit einem großen Aortenpatch mitentnommen. Das Duodenum wurde postpylorisch und kranial der Treitz'schen Falte mit einem Stapler abgesetzt.

Für die rechte Nephrektomie erfolgte nun die Präparation von medial nach lateral und kaudal. Der Ureter wurde unter Schonung des periurethralen Fettgewebes weit nach distal verfolgt und durchtrennt. Die linke Nephrektomie erfolgte in gleicher Weise.

Die abdominalen Organe wurden nun in kalter UW- bzw. HTK-Lösung bei 4 °C verpackt und den vorgesehenen Untersuchungen zugeführt.

#### *2.3.13.1 Aufarbeitung der explantierten Leber*

Mit einer Gefrierzange wurde aus der explantierten Leber Gewebe entnommen und in Stickstoff gefroren. Aus diesem Gewebe wurden die energiereichen Phosphate (ATP, ADP, AMP, daraus resultierend EC) und deren Abbauprodukte (Hypoxanthin, Xanthin) im Gewebe als Zeichen von Vitalität und Zellfunktionalität bestimmt. Weiters wurde Gewebe in Formalin eingelegt, in Paraffin eingebettet, mit einem Mikrotom geschnitten und der weiteren histologischen und immunhistochemischen Diagnostik zugeführt. Aus dem Überstand der Preservationslösung wurden Proben aliquotiert. Unmittelbar vor und nach Perfusion sowie – zeitlich der humanen Transplantation entsprechend – 6 Stunden nach Perfusion wurden Biopsien entnommen.

#### *2.3.13.2 Aufarbeitung des explantierten Pankreas*

Unmittelbar nach der Explantation des Pankreas wurde mit einer Gefrierzange Gewebe entnommen und in Stickstoff gefroren. Aus diesem Gewebe wurden die energiereichen Phosphate (ATP, ADP, AMP, daraus resultierend EC) und deren Abbauprodukte (Hypoxanthin, Xanthin) im Gewebe als Zeichen von Vitalität und Zellfunktionalität bestimmt. Weiters wurde Gewebe in Formalin eingelegt, in Paraffin eingebettet, mit einem Mikrotom geschnitten und der weiteren histologischen und immunhistochemischen Diagnostik zugeführt. Unmittelbar vor und nach Perfusion sowie – zeitlich der humanen Transplantation entsprechend – 6 Stunden nach Perfusion wurden Biopsien entnommen.

#### *2.3.13.3 Aufarbeitung der explantierten Niere*

Unmittelbar nach der Explantation der Spenderniere wurde mit einer Gefrierzange Gewebe entnommen und in Stickstoff gefroren. Aus diesem Gewebe wurden die energiereichen Phosphate (ATP, ADP, AMP, daraus resultierend EC) und deren Abbauprodukte (Hypoxanthin, Xanthin) im Gewebe als Zeichen von Vitalität und Zellfunktionalität bestimmt. Weiters wurde Gewebe in Formalin eingelegt, in Paraffin eingebettet, mit einem Mikrotom geschnitten und der weiteren histologischen und immunhistochemischen Diagnostik zugeführt. Unmittelbar vor und nach Perfusion sowie – zeitlich der humanen Transplantation entsprechend – 12 Stunden nach Perfusion wurden Biopsien entnommen.

### **2.3.14 Bestimmung von Serumparametern**

Folgende Laborparameter werden im Routinelabor bestimmt:

- Volles Blutbild
- Kreatinin
- Harnstoff
- Natrium
- Kalium
- Hämoglobin
- Hämatokrit
- Alanin-Aminotransferase (ALT)
- Aspartat-Aminotransferase (AST)
- Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)

### **2.3.15 Statistik**

Die Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung von Mittelwerten dargestellt. ANOVA mit dem Bonferroni post hoc Test wurde für Gruppenvergleiche zwischen drei oder mehreren Gruppen herangezogen (GraphPad Prism Version 5 für Windows, GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, USA). Eine Wahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$  wurde als signifikant angesehen.

## 3 ERGEBNISSE

### 3.1 Synchronisierung der Daten

In den Ergebnissen wurden die EC- und die ATP-Werte der einzelnen Studien zur Auswertung herangezogen. Dabei zeigte sich, dass die Gewichtsangaben der ATP-Werte in den Studien zwischen mol/g ww, mol/g dw und mol/g Prot variieren. Um die Werte besser vergleichen zu können wurde auf in Tabelle 7 dargestellte Umrechnungsfaktoren zurückgegriffen. Soweit nicht in den zitierten Arbeiten beschrieben, wurden bei jedem Organ der verbleibende, fehlende Wert aus den zwei bereits vorhandenen Werten berechnet. In einigen Fällen wurde, mangels genauerer Angabe in den Arbeiten, die wahrscheinlichste Gewichtseinheit angenommen. Die ATP-, ADP- und AMP-Werte wurden in den Arbeiten allesamt in  $\mu\text{mol/g}$  oder  $\text{nmol/mg}$  angegeben.

Organ	Trocken/Feuchtgewicht	Protein/Feuchtgewicht	Protein/Trockengewicht
Leber	34 % <sup>a)</sup>	26,49 %	77,92 % <sup>b)</sup>
Pankreas	27 % <sup>c)</sup>	21,87 %	81 % <sup>d)</sup>
Niere	20,13 % <sup>e)</sup>	14,49 % <sup>e)</sup>	72 % <sup>e)</sup>
Herz	16,79 % <sup>f)</sup>	11,37 % <sup>f)</sup>	67,73 % <sup>f)</sup>

**Tabelle 7: Ratio zwischen Trocken-, Feucht- und Proteingewicht**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: a) (35), b) (36), c) (37), d) (38), e) (39), f) (40)

### 3.2 Relevante Arbeiten

Im Folgenden werden die in der Literaturrecherche eruierten Arbeiten – gereiht nach Organen – präsentiert. Anschließend an die Arbeiten folgen die dazugehörigen Tabellen mit den ausgearbeiteten ATP- und EC-Werten. Hierbei wurden, bei Aufstellung von mehreren Werten – zum Beispiel bei Vergleich unterschiedlicher Perfusionslösungen –, immer die Bestwerte der einzelnen Versuchsgruppen sowie der Maximalwert der gesamten Arbeit (in den Tabellen grau unterlegt) dargestellt.

#### 3.2.1 Leber

Im Folgenden werden 12 relevante Arbeiten bezüglich hepatischen Energiehaushalts mit ausgewählten Literaturstellen und kurzer Inhaltsangabe besprochen.

1) *Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat (HTK) und verzögerte Transplantats-Funktion nach verlängerter kalter Ischämie*

In mehreren Studien wurde festgestellt, dass bei kurzer Ischämie die HTK-Lösung gegenüber der University of Wisconsin-Lösung (UW) gleich oder besser wirkt. In dieser Arbeit wurde jedoch die Wirksamkeit bei längerdauernder Ischämiezeit untersucht. Zur Studie wurden Ratten-Lebern mit HTK bzw. UW perfundiert. Dabei stellte man fest, dass wie erwartet die HTK-Lösung in den ersten 2 Stunden Ischämie besser wirkte. Danach konnte aber kein Vorteil gegenüber der UW-Lösung festgestellt werden, im Gegenteil konnte eine bessere Wirksamkeit der UW-Lösung bei verlängerter Ischämiezeit bestätigt werden. (41) (siehe Tabelle 8–1)

2) *Erholungsprozess des Energy Charge, mitochondriale Schonung und Aufhebung der durch Konservierung verursachten Leberschädigung durch hypotherme Oxygenierung vor Reperfusion*

Untersucht wurden zwei Techniken zur Wiederbelebung von Leber-Transplantaten, die bei unzureichender Konservierung unerwartet langer Ischämiezeit ausgesetzt wurden. Hierfür wurden Ratten-Lebern für 22 Stunden kalt konserviert. Einige davon wurden für 90 Minuten entweder mit venöser, systemischer Oxygenierung (VSOP) oder mit oxygenierter, hypothermer, maschineller Perfusion (HMP) versorgt. Die Transplantatsviabilität wurde nach erfolgter Reperfusion untersucht. Beide Techniken (VSOP und HMP) zeigten eine Verbesserung der Viabilität durch Verhütung einer mitochondrialen Dysfunktion und dem daraus folgenden Gewebsschaden. (42) (siehe Tabelle 8–2)

3) *Gasförmige Sauerstoff-Perfusion oder oxygenierte, maschinelle Perfusion mit Custodiol-N zur Langzeit-Konservierung von ischämischen Ratten-Lebern*

Ähnlich der Arbeit 2) wurden auch hier die zwei Techniken VSOP und HMP untersucht, allerdings unter besonderer Beachtung einer neu entwickelten Perfusionslösung, der HTK-Custodiol N-Lösung. Zur Studie wurden Ratten-Lebern von NHBD mit jeweils HTK und dem modifizierten HTK + Custodiol N perfundiert. Zusätzlich wurden die Spender VSOP und HMP ausgesetzt. Die Viabilität wurde nach 18 Stunden in vitro getestet. Als Resultat der Arbeit ergab sich eine Empfehlung hinsichtlich der Verwendung von VSOP zur Steigerung der Gewebs-Integrität und funktionellen Erholung bei vorgeschädigter Leber. Bezüglich Custodiol-N konnte keine gesteigerte, funktionelle Erholung nachgewiesen werden. (43) (siehe Tabelle 8–3)

4) *Der Effekt einer der kalten Konservierung vorangehenden Perfusion und der Zusatz von Biliverdin zum Lebertransplantat von NHBDS*

Ziel der Studie war die Verbesserung der Viabilität eines Leber-Transplantats durch modifizierte Perfusion mittels des Antioxidans Biliverdin. Verglichen wurden Gewebeproben die teilweise warmer Ischämie, einer unterschiedlichen Dauer an kalter Konservierung oder dem Zusatz von Biliverdin zur verwendeten Krebs-Henseleit-Lösung ausgesetzt waren. Die Conclusio ergab eine Steigerung der Transplantats-Viabilität der NHBDS durch Perfusion vor kalter Konservierung sowie einer Verbesserung des Energiestatus‘ durch additive Verwendung von Biliverdin. (44) (siehe Tabelle 8–4)

5) *Insulin in einer UW-Lösung verstärkt die hepatische Ischämie – Reperfusionsschäden durch Energie-Abbau über den IRS-2/SREBP-1c Signalweg*

Diese Arbeit hinterfragt zwei Themen, die auch zwei Studien bezüglich der ATP und EC-Werte mit sich bringen. Daher finden sich hierzu auch zwei Einträge in der unten folgenden Tabelle 8.

In einer vorangegangenen Studie der Autoren wurde festgestellt, dass die mit Insulin modifizierte UW-Lösung den hepatischen Ischämie- und Reperfusionsschaden verschlimmert. In der vorliegenden Studie wurde genauer auf die Einwirkung des Insulin auf die energie-reichen Phosphate und den sich daraus ergebenden EC eingegangen. Als Resultat ergab sich, dass Insulin nach 3 Stunden Konservierung zu einer deutlichen ATP-Minderung sowie verschlechtertem EC beitrug.

Im zweiten Teil der Studie wurde der sich durch das Insulin ergebende Signalweg während der Konservierung überprüft. Es wurde festgestellt, dass die Aktivität des IRS-2<sup>2</sup> während der Konservierung abnahm. Nachgeschaltete Zielgene wie SREBP-1c<sup>3</sup>, GSK<sup>4</sup> und FAS<sup>5</sup> sowie GSK-3 $\beta$ <sup>6</sup> zeigten eine ähnliche Aktivierung während der kalten Konservierung. Daraus folgte ein gesteigerter Lipoproteinmetabolismus, welcher am Ischämie- und Reperfusionsschaden beteiligt ist. (45) (siehe Tabelle 8-5a&5b)

---

<sup>2</sup> Insulin-Rezeptor-Substrat-2

<sup>3</sup> Sterol-Regulator-Element-Bindendes-Protein-1c

<sup>4</sup> Glukokinase

<sup>5</sup> Fettsäure-Synthase

<sup>6</sup> Phospho-Glykogen Synthase-Kinase 3 $\beta$

6) *Gesteigerter Energie-Metabolismus während kalter, hypoxischer Organ-Konservierung: Studien an Ratten-Lebern nach Pyruvat-Zusatz*

In dieser Studie wurde die Magnet-Resonanz-Spektroskopie verwendet, um die biochemischen Effekte auf hepatisches Gewebe von unterschiedlichen Pyruvatmengen (3 und 15 mmol) während kalter Konservierung zu hinterfragen. Bei Verwendung von 15 mmol Pyruvat zusätzlich zur UW-Lösung konnte eine Steigerung des hepatischen Laktats, Alanins und Succinats beobachtet werden, verglichen mit der Verwendung von 3 mmol Pyruvat und der reinen UW-Lösung. Weiters wurde unter Verwendung von 15 mmol Pyruvat ein höheres ATP nach 4 Stunden festgestellt, sowie ein verbesserter EC nach 4 und 24 Stunden. (46) (siehe Tabelle 8–6)

7) *Energiemetabolismus nach verlängerter, hepatischer kalter Konservierung: Vorteile einer unterbrochenen Hypoxie auf den Adeninnukleotid-Vorrat in der Ratten-Leber*

In dieser Studie wurde die Fähigkeit einer kurzen hypothermen Reperfusion (HTR) zur Wiederherstellung des hepatischen Energiemetabolismus nach kalter, hypoxischer Konservierung überprüft. Als Perfusionslösung diente eine Histidin-Laktobionat-Raffinose-Mischung. Nach 5, 10 und 24 Stunden wurden jeweils Proben entnommen. Es wurde festgestellt, dass jene Transplantate die zu Stunde 5 und 10 keiner HTR unterzogen wurden, nach 24 Stunden eine verminderte ATP-Regeneration und einen niedrigeren EC aufwiesen. Wurde bei Stunde 5 und 10 eine HTR angewandt führte dies zu einer gesteigerten Erholungsfähigkeit der Adeninnukleotide. Dies führte die Autoren zu dem Schluss, dass die schlechte metabolische Erholung nach Langzeit-kalter-Konservierung mehr auf eine sinkende mitochondriale Phosphorylierung als auf einen Mangel an Vorstufen der Adeninnukleotide zurückzuführen ist. (47) (siehe Tabelle 8–7)

8) *Gasförmige Persufflation mit Kohlenmonoxid während Ischämie schützt die isolierte Leber und erhöht die energetische Erholungsfähigkeit*

Der Einfluss von CO auf die energetische Erholungsfähigkeit bei Ratten-Lebern (NHBD) wurde in dieser Arbeit untersucht. Hierzu wurde CO zu 50 und 250 ppm infundiert. Die Gabe von 50 ppm führte zu einer signifikanten Minderung des Enzymverlustes. Die funktionelle Regenerationskapazität (Gallenproduktion und EC) stieg nach Reperfusion um ca. 50 %. Dieser Effekt wird von den Autoren auf die Reduktion der Lipid-Desoxydation - induziert durch freie Radikale, den verminderten vaskulären Perfusionswiderstand und die verbesserte mitochondriale Ultrastruktur zurückgeführt. Die Conclusio empfiehlt die ex-

vivo, niedrigdosierte CO-Gabe des isolierten Organs zur Viabilitäts-Steigerung des Transplantats. (48) (siehe Tabelle 8–8)

*9) Energie-Metabolismus und Überleben von Leber-Transplantaten von NHBD-Ratten mit Schädigung durch warme Ischämie*

Zur Untersuchung des Einflusses warmer Ischämie (WI) auf die Transplantats-Viabilität wurden Ratten in 7 Gruppen mit WI-Zeit von 0, 10, 15, 20, 30, 45 und 60 Minuten unterteilt. 24 und 48 Stunden nach einer orthotopen Lebertransplantation wurde der Energiemetabolismus untersucht und die Überlebensrate quantifiziert. Die ATP- und EC-Level sanken in direkter Relation zur länger andauernden Ischämie. Besonders auffällig war das rasche Absinken der Werte ab 30 Minuten. Die Werte erholten sich großteils aber 24 Stunden postoperativ. Bei einer WI von 45 Minuten erholten sich die Energie-Parameter teilweise 48 Stunden postoperativ. Bei 60 Minuten WI kam es selbst 48 Stunden postoperativ nur kaum zu einer Erholung der Werte. ATP- und EC-Werte schienen in dieser Studie gute Kriterien für die Bewertung der Qualität eines Leber-Transplantats zu sein. Die Dauer der WI steht in enger Korrelation mit der Erholung des energetischen Metabolismus und der Überlebensrate. (49) (siehe Tabelle 8–9)

*10) Pharmakologische Transplantats-Schonung ohne Vorbehandlung des Spenders bei Leber-Transplantation an NHBDs*

Bei Schweinen wurde eine orthotope Leber-Transplantation unter Verwendung einer UW-Perfusionslösung bei einer Konservierungsdauer von 8 Stunden durchgeführt. Die Versuchstiere wurden in eine Kontrollgruppe und eine Therapiegruppe unterteilt, die zusätzlich zur normalen Perfusionslösung einen Endothelin Antagonisten (TAK-044) und einen Plättchen Aktivierungs-Faktor Antagonisten (E5880) erhielt. Die Behandlung mittels TAK-044 und E5880 zeigte eine signifikante Steigerung der 7 Tage Überlebensrate (100 % vs. 17 %). In der behandelten Gruppe war weiters postoperativ der portal-venöse Druck in Relation zur Kontrollgruppe niedriger. Zusätzlich kam es in der Therapiegruppe zu einer raschen Steigerung der ATP und EC Werte nach Reperfusion. Die pharmakologische Modulation mittels TAK-044 und E5880 führt somit zu einer Verbesserung der Viabilität von Lebertransplantaten bei NHBDs. (50) (siehe Tabelle 8–10)

*11) Die Strategie einer kombinierten Ischämie-Präkonditionierung und einer Salvianol-B Säure Vorbehandlung um hepatischer Ischämie- und Reperfusionsschädigung bei der Ratte vorzubeugen*

In dieser Studie wurden 60 Ratten in 5 Gruppen unterteilt: 1) Nur Anästhesie und Laparotomie 2) 90 Minuten anhaltende Ischämie 3) 10 Minuten Ischämie und 10 Minuten Reperfusion vor der anhaltenden Ischämie 4) Injektion von Sal-B i.v. 10 Minuten vor der anhaltenden Ischämie 5) Kombination aus Gruppe 3) und 4). 5 Stunden nach Reperfusion wurde unter anderem deren Adeninnukleotid-Haushalt gemessen. Verglichen mit der Gruppe 2) konnte die Gruppe 5) statisch höhere ATP und EC-Werte aufweisen. Die kombinierte Verwendung einer ischämischen Präkonditionierung und der Injektion von Salvianol-B Säure führt zu einem protektivem Effekt auf das Lebergewebe bezüglich Ischämie- und Reperfusionsschäden. (51) (siehe Tabelle 8–11)

*12) Ein freier Radikal-Scavenger, Edavarone, beugt Ischämie- und Reperfusionsschäden beim Leber-Transplantat bei NHBDs vor*

Das Ziel der Studie war die zytoprotektive Aktivität von Edavarone im Bezug auf Ischämie- und Reperfusionsschäden nachzuweisen. Dafür wurden Ratten-Lebern von HBDS<sup>7</sup> und NHBDs nach 6 Stunden kalter Konservierung für 60 Minuten, unter Verwendung eines Krebs-Henseleit-Puffers, reperfundiert. In einer anderen Gruppe wurde der Versuch gleich gestaltet, allerdings anstatt des Krebs-Henseleit-Puffers ein Edavarone-Puffer eingesetzt. In der Edavarone-Gruppe zeigte sich eine signifikante Steigerung des portalen Flussvolumens, der Galleproduktion und des EC. Dies bestätigt die Annahme der Autoren, dass Edavarone einen unterdrückenden Effekt auf die ischämie- und reperfusionsinduzierte Schädigung auf Lebertransplantate bei NHBDs hat. (52) (siehe Tabelle 8–12)

---

<sup>7</sup> heart-beating-donor

Energiehaushalt Leber									
Publ.	Autor	Jahr	Spezies	Lösung	Messungszeitpunkt	EC	ATP	Donor	
1	C.L. Corps et al.	2009	Ratte	UW <sup>12</sup> &HTK <sup>8</sup>	0min nach Explant.	0,58&0,58		HB	
					5min nach Explant.	0,33&0,52			
					10min nach Explant.	0,40&0,48			
					1h nach Explant.	0,43&0,49			
					4h nach Explant.	0,25&0,29			
					24h nach Explant.	0,09&0,13			
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,58</b>			
2	J. Stegemann, T. Minor	2009	Ratte	HTK <sup>8</sup>	nach 6h kK <sup>9</sup>	0,38	1,28±0,15 µmol/g ww*	HB	
					nach 22h kK <sup>9</sup>	0,22	0,54±0,05 µmol/g ww*		
					nach 22h kK <sup>9</sup> + VSOP <sup>10</sup> + HMP <sup>11</sup>	0,79	3,67±0,25 µmol/g ww*		
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,79</b>	<b>3,67±0,25 µmol/g ww*</b>		
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>13,85 µmol/g Prot</b>		
3	J. Stegemann et al.	2009	Ratte	HTK <sup>8</sup>	nach 18h	0,26±0,04		NHB	
					nach 18h + VSOP <sup>10</sup>	0,55±0,14			
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,55±0,14</b>			
4	T. Iwane et al.	2006	Ratte	UW <sup>12</sup>	HBD vor kK <sup>9</sup>	0,27		HB + NHB	
					NHBD vor kK <sup>9</sup>	0,15			
					HBD mit KH <sup>13</sup> vor kK <sup>9</sup>	0,29			
					HBD nach 6h kK <sup>9</sup>	0,18			
					NHBD nach 6h kK <sup>9</sup>	0,12			
					HBD mit KH <sup>13</sup> nach 6h kK <sup>9</sup>	0,25			
					HBD nach Reperfusion	0,36			0,53 µmol/g ww*
					NHBD nach Reperfusion	0,36			0,37±0,06 µmol/g ww*
					HBD mit KH <sup>13</sup> nach Reperfusion	0,41			0,52±0,09 µmol/g ww*
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,41</b>			<b>0,53 µmol/g ww*</b>
					<b>µmol/g Prot</b>				<b>2,01 µmol/g Prot</b>
5a	X.L. Li et al.	2004	Ratte	UW <sup>12</sup>	bei Explantation	0,34±0,08	3,8 µmol/g ww	HB	
					nach 3h	0,39±0,03	4,3 µmol/g ww		
				UW <sup>12</sup> +Insulin	nach 7h	0,31	3,03±0,98 µmol/g ww		
					nach 9h	0,26±0,02	1,25±0,15 µmol/g ww		
				UW <sup>12</sup>	nach 24h	0,16	0,69±0,20 µmol/g ww		
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,39±0,03</b>	<b>4,3 µmol/g ww</b>		
<b>µmol/g Prot</b>		<b>16,23 µmol/g Prot</b>							
5b	X.L. Li et al.	2004	Ratte	UW <sup>12</sup>	24h nach Transplant bei 7h Konserv.	0,37	3,10 µmol/g ww	HB	
					24h nach Transplant bei 9h Konserv.	0,28	1,60 µmol/g ww		
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,37</b>	<b>3,10 µmol/g ww</b>		
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>11,71 µmol/g Prot</b>		

<sup>8</sup> Histidin Tryptophan Ketoglutarat

<sup>9</sup> kalte Konservierung

<sup>10</sup> Vascular Systemic Oxygen Persufflation

<sup>11</sup> Hypothermic Machine Perfusion

<sup>12</sup> University of Wisconsin Lösung

<sup>13</sup> Krebs-Henseleit Lösung

6	P.W. So, B.J. Fuller	2003	Ratte	UW <sup>12</sup>	bei Explant.	0,66	2,00 µmol/g ww*	HB
					nach 1h	0,53	1,25 µmol/g ww*	
					nach 2,5h	0,41	0,80 µmol/g ww*	
					nach 4h	0,37	0,60 µmol/g ww*	
					nach 24h	0,01	0,20 µmol/g ww*	
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,66</b>	<b>2,00 µmol/g ww*</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>7,55 µmol/g Prot</b>	
7	S.J. Mitchell et al.	1999	Ratte	HLR <sup>14</sup>	bei Explant.	0,45	1,20 µmol/g ww*	HB
					nach 20min	0,80	2,60 µmol/g ww*	
					nach 1h	0,84	2,80 µmol/g ww*	
					nach 2h	0,87	2,80 µmol/g ww*	
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,87</b>	<b>2,80 µmol/g ww*</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>10,57 µmol/g Prot</b>	
8	M. Koetting et al.	2010	Ratte	HTK <sup>8</sup> +CO <sup>15</sup>	18h nach Explant. mit 50ppm CO <sup>15</sup>	0,68		NHB
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,68</b>		
9	Y. Ma et al.	2006	Ratte	RL <sup>16</sup>	bei Explant.	0,59±0,03	2,37±0,36 µmol/g ww*	NHB
					24h nach Transplantation	0,61±0,03	2,34±0,32 µmol/g ww*	
					48h nach Transplantation	0,61±0,01	2,35±0,28 µmol/g ww*	
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,61±0,03</b>	<b>2,37±0,36 µmol/g ww*</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>8,95 µmol/g Prot</b>	
10	M. Gu et al.	2000	Schwein	UW <sup>12</sup>	vor Explant.	0,81±0,05	2,87±0,73 µmol/g ww	NHB
					1h nach Reperfusion	0,71±0,05	1,52±0,39 µmol/g ww	
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,81±0,05</b>	<b>2,87±0,73 µmol/g ww</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>10,83 µmol/g Prot</b>	
11	R. Kong et al.	2009	Ratte	Sal-B <sup>17</sup> - Injektion	ohne Explant., nach 10min ischämischer Konditionierung, 10min Reperfusion, 90min Ischämie	0,57	7,60 µmol/g Prot*	HB
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,57</b>	<b>7,60 µmol/g Prot*</b>	
12	A. Nakamura et al.	2008	Ratte	UW <sup>12</sup>	nach Explant. + 6h kK <sup>9</sup>	0,61		HB
					30min Abklemmung, nach Explant. + 6h kK <sup>9</sup> + 60min KH <sup>13</sup>	0,58		NHB
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,61</b>		HB

**Tabelle 8: Erhebung der EC- und ATP-Werte aus den in Kapitel 3.2.1 beschriebenen Arbeiten. Bei \* wurde die wahrscheinlichste Maßangabe angenommen.**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: siehe 3.2.1 Punkt 1) bis 12)

### 3.2.2 Pankreas

Im Folgenden werden 5 relevante Arbeiten bezüglich pankreatischen Energiehaushalts mit ausgewählten Literaturstellen und kurzer Inhaltsangabe besprochen.

<sup>14</sup> Histidin Laktobionat Raffinose

<sup>15</sup> Kohlenmonoxid

<sup>16</sup> Ringer-Laktat

<sup>17</sup> Salvianol-B Säure

1) *Ductus Pancreaticus: Ein brauchbarer Zugang um Gewebe während hypothermer Pankreaskonservierung zu oxygenieren?*

Die Autoren nahmen an, dass eine Oxygenierung über den Ductus pancreaticus ein geeigneter Weg sei, um das Pankreasgewebe bei Transplantation vor ischämischen Schäden zu schützen. Ratten-Pankreata wurden nach duktaler Injektion mit kalter HBSS<sup>18</sup>, präoxygenierter HBSS<sup>18</sup> (O-HBSS), oxygeniertem Perfluorocarbon (O-PFC) oder oxygeniertem und emulgiertem Perfluorocarbon (O-ePFC) in reinem HBSS<sup>18</sup> für 24 Stunden konserviert. Mittels Spektrophotometrie wurden die Adeninnukleotide und daraus folgend der EC gemessen. In allen Gruppen gab es einen signifikanten ATP-Verlust nach hypothermer Konservierung. Sich damit von den anderen Versuchsgruppen abgrenzend, ergab sich bei duktaler Injektion von O-PFC eine Verlangsamung des Adeninnukleotid-Verlustes. Verglichen zur HBSS<sup>18</sup>-Gruppe führte O-PFC zu einer reduzierten ATP/ADP-Ratio sowie zu einem höheren EC. Dies deutet darauf hin, dass der Ductus pancreaticus einen geeigneten Weg zur pankreatischen Gewebsoxygenierung darstellt. (53) (siehe Tabelle 9–1)

2) *Effekt von oxygeniertem Perfluorocarbon auf isolierte Inselzellen während des Transportes*

Ähnlich der Arbeit 1) wird auch hier der positive Nutzen von O-PFC auf das pankreatische Gewebe hinterfragt. Besonderes Augenmerk wurde auf den Energiestatus der Inselzellen nach Transport in luftdichten Behältern gelegt. Dafür wurden reine Inselzellen von Ratten-Pankreata für 24 Stunden in RPMI<sup>19</sup>-Medium oder UW-Lösung konserviert, jeweils eine Gruppe mit und eine ohne O-PFC Zusatz. Die beiden Lösungen zeigten in den Resultaten kaum Unterschiede bezüglich des Energiestatus. Die mit O-PFC versorgten Proben zeigten im Vergleich aber geringere ATP- und EC-Level. Die Studie zeigte somit, dass zusätzliches O-PFC - im Vergleich zu reiner UW- oder RPMI<sup>19</sup>-Lösung - bei Inselzell-Explantation mit folgendem Transport zu einem schlechteren Energiestatus führt. (54) (siehe Tabelle 9–2)

3) *Eine neue Methode zur Bestimmung von ATP-, ADP- und AMP-Gehalt von einzelnen pankreatischen Inselzellen vor Transplantation*

Die Bestimmung der Inselzell-Viabilität vor der Transplantation ist für ein erfolgreiches klinisches Ergebnis zwingend erforderlich. In der Studie ist man davon ausgegangen, dass dafür am besten ATP und EC geeignet sind. Dafür wurde eine neue biolumineszente, en-

---

<sup>18</sup> Hank's Balanced Salt Solution

<sup>19</sup> Roswell Park Memorial Institute

zymatische Durchgangsprüfung entwickelt, die das Enzym Luziferase des Glühwürmchens, Pyruvatkinase und Pyruvathosphatasekinase verwendet, die die Adeninnukleotide in pankreatischen Inselzellen nachweisen soll. Dadurch können schnell und reproduzierbar die ATP- und EC-Werte der benötigten Inselzellen gemessen werden. (55) (siehe Tabelle 9-3)

4) *Duktale Injektion von UW-Lösung vor Pankreas-Konservierung vermeidet oxydativen Zellschaden.*

In dieser Studie wird auf die extreme Vulnerabilität von Schweine-Pankreata bei oxydativem Stress aufgrund eines Mangels an endogenen Antioxidantien hingewiesen. Um dem entgegenzuwirken untersuchte man die unterschiedliche Wirksamkeit von verschiedenen intraduktalen Volumina einer UW-Lösung. Dafür verabreichte man 24 Schweinen teils 10, 20, 50 und 100 mL UW-Lösung intraduktal. Gemessen an oxydativem Stress (Zellschaden bzw. Zell-Tod) und ATP Gehalt zeigte die Studie, dass eine intraduktale Injektion von 50 mL UW-Lösung zu den besten Ergebnissen führt. (56) (siehe Tabelle 9-4)

5) *Steigerung von Gewebs-ATP Level während der Explantation unter Beachtung von Resultaten für präoxygeniertes Perfluorocarbon beim Inselzellgewinn – Eine neue Strategie zur Inselzell-Isolation*

Unter Beachtung und Verwendung der bisherigen Erkenntnisse bezüglich der Vorteile des O-PFC auf Inselzell-Gewinn und deren Viabilität, wird in dieser Studie ein neues Verfahren der Inselzell-Isolation untersucht. In 4 Gruppen wurden Ratten-Pankreata mit oder ohne O-PFC vorbehandelt und nochmals jeweils der Hälfte beider Gruppen eine Kollagenase-Lösung verabreicht. Durch Messung der ATP Level wurde festgestellt, dass die Verabreichung von O-PFC selbst keinen Vorteil auf die Inselzell-Ausbeute mit sich brachte. Die ATP Level nach Pankreas-Entnahme konnten aber unter Zusatz von Adenosin zum O-PFC gut gehalten werden und eine größere Zahl an Inselzellen gewonnen werden. (57) (siehe Tabelle 9-5)

Energiehaushalt Pankreas								
Publ.	Autor	Jahr	Spezies	Lösung	Messungszeitpunkt	EC	ATP	Donor
1	M. R. Mirbolooki et al.	2010	Ratte	O-HBSS <sup>20</sup>	0h nach Explant.	0,89±0,02	12,6±1,6 µmol/g Prot	NHB, gP <sup>21</sup>
					1h nach Explant.	0,76	6,57±0,83 µmol/g Prot	
					4h nach Explant.	0,61±0,02	4,1 µmol/g Prot	
					12h nach Explant.	0,22±0,03	0,19±0,04 µmol/g Prot	
					24h nach Explant.	0,24	0,17 µmol/g Prot	
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,89±0,02</b>	<b>12,6±1,6 µmol/g Prot</b>	
2	S. Terai et al.	2009	Ratte	UW <sup>12</sup>	nach 24h Konservierung	0,85±0,02	6,98±0,06 µmol/g Prot*	HB, IZ <sup>22</sup>
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,85±0,02</b>	<b>6,98±0,06 µmol/g Prot*</b>	
3	S. Ishii et al.	2004	Ratte	keine Lsg.	0h nach Explant.	0,74±0,02		HB, IZ <sup>22</sup>
					<b>Maximalwert</b>	<b>0,74±0,02</b>		
4	P. Stiegler et al.	2009	Schwein	UW <sup>12</sup>	nach 6h kK <sup>9</sup>		2,72±0,11 µmol/g ww*	HB, gP <sup>21</sup>
					<b>Maximalwert</b>		<b>2,72±0,11 µmol/g ww*</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>12,44 µmol/g Prot</b>	
5	Y. Tanioka et al.	2005	Ratte	keine Lsg.	bei Explant.		4,20±0,70 µmol/g dw	HB, gP <sup>21</sup>
				Kollag <sup>23</sup> +Adenosin	nach 20min warmer Ischämie		0,70±0,10 µmol/g dw	
				keine Lsg.	<b>Maximalwert</b>		<b>4,2±0,7 µmol/g dw</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>5,18 µmol/g Prot</b>	

**Tabelle 9: Erhebung der EC- und ATP-Werte aus den in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Arbeiten. Bei \* wurde die wahrscheinlichste Maßangabe angenommen.**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: siehe 3.2.2 Punkt 1) bis 5).

### 3.2.3 Niere

Im Folgenden werden 4 relevante Arbeiten bezüglich renalen Energiehaushalts mit ausgewählten Literaturstellen und kurzer Inhaltsangabe besprochen.

#### 1) Der Effekt von Trimetazidin auf das Nukleotid-Profil in Ratten-Nieren mit Ischämie- und Reperfusionsschädigung

Trimetazidin (TMZ) ist ein Antioxidans, welches zur Vermeidung von Ischämie- und Reperfusionsschäden angewandt wird. Das Ziel war den Effekt von TMZ auf das Nukleotid-Profil in Ratten-Nieren zu untersuchen. Die Studie wurde an 2 Gruppen von Ratten durchgeführt. Die eine erhielt für 30 Tage TMZ, die andere ein Placebo. Nach erfolgter Ischämie und Reperfusion wurden unter anderem die energiereichen Nukleotide mittels HPLC gemessen. Eben diese Werte waren in der Versuchsgruppe nach erfolgter Reperfusion im

<sup>20</sup> oxygenierte Hank's Balanced Salt Solution

<sup>21</sup> gesamtes Pankreas

<sup>22</sup> Inselzellen

<sup>23</sup> Kollagenase

renalen Gewebe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant höher. Dies zeigt den Schutz den TMZ gegenüber Dephosphorylierung der Nukleotide und einem ischämischen Schaden bietet. (58) (siehe Tabelle 10–1)

2) *Experimentelle Studie des zellulären EC von Schweine-Nieren-Transplantaten von NHBD*

In dieser Studie wurde der Nutzen einer extrakorporalen Wiederaufwärmung (ECR) bei 37 °C durch einen kardio-pulmonalen Bypass gefolgt von warmer Ischämie mit schlussendlicher totaler Abkühlung des Spenderkörpers durch kryokonservierende Substanzen untersucht. Während der ECR konnte so mittels EC zwischen brauchbaren und nichtbrauchbaren Organen diskriminiert werden. Bezüglich des ATP wurde tendenziell eine Zunahme der Konzentration beobachtet. (59)

Die Ergebnisse dieser Studie wurden zwar in Tab. 10 niedergeschrieben, die enthaltenen Werte bzw. die Werteinheit (Units) des ATP können aber nicht nachvollzogen werden. So kann man das Ergebnis der Studie nur am textlichen Inhalt sowie am EC der selbigen festmachen. (siehe Tabelle 10–2)

3) *Der Effekt von Hirntod und NHB-Nieren-Spende auf die renale Funktion und den Schaden: Eine Beurteilung anhand der isolierten, perfundierten Ratten-Niere*

Ratten wurden entweder für 4 Stunden dem Hirntod oder für 45 Minuten einem Herzstillstand ausgesetzt. Lebende Ratten dienten als Kontrollgruppe. Um die Effekte der kalten Ischämie auszusparen wurden die Nieren direkt nach den Eingriffen reperfundiert. Die renale Dysfunktion (red. Urinproduktion, anaerober Glukose-Metabolismus, Laktat-Bildung und luminaler Freisetzung von intrazellulären und lysosomalen Enzymen) zeigte sich am stärksten beim NHBD. Die Nieren der hirntoten Spender zeigten eine gesteigerte Urinproduktion und eine funktionelle Anomalität bezüglich der  $K^+$ -Reabsorption, eventuell als Zeichen eines gesteigerten ATP Abbaus. Bei beiden Versuchsgruppen zeigte sich also ein erheblicher Effekt bezüglich der renalen Dysfunktion. Diese Dysfunktion war bei den NHBD-Tieren ausgeprägter als bei den hirntoten Spendern. (60) (siehe Tabelle 10-3)

4) *Ischämische Konditionierung durch kurzzeitige Reperfusion mildert die renale Ischämie- und Reperfusionsschädigung ausgelöst durch Apoptose und Autophagie bei der Ratte*

In dieser Studie wurde angenommen, dass eine ischämische Präkonditionierung mit kurzzeitiger Reperfusion während einer verlängerten Ischämiezeit die renale Dysfunktion ver-

bessert. Dem Versuchsaufbau dienten 4 Gruppen von Ratten, die jeweils 4x 15 Minuten, 2x 30 Minuten, 1x 60 Minuten oder keiner ischämischen Konditionierung unterzogen wurden, gefolgt von 4 oder 24 Stunden Reperfusion. Die 2x 30-minütige Konditionierung mit einer zwischenzeitlichen Reperfusion von 3 Minuten führte zu einem im Vergleich signifikant hohen, renalem ATP-Wert, einem gesteigerten antioxidantem Mechanismus und einem erniedrigten Ischämie- und Reperfusionstress. Die Verringerung des renalen ischämischen und des Reperfusionsschadens durch ischämische Konditionierung wurde durch diese Studie untermauert. (61) (siehe Tabelle 10–4)

Energiehaushalt Niere								
Publ.	Autor	Jahr	Spezies	Lösung	Messungszeitpunkt	EC	ATP	Donor
1	L. Domanski et al.	2006	Ratte	EC <sup>24</sup>	0h nach Explant.	0,32±0,08	9,17±3,75 µmol/g Prot*	HB
					15min Abklemmen, nach Explant.	0,29±0,07	6,00±3,27 µmol/g Prot*	NHB
					<b>Maximalwert:</b>	<b>0,32±0,08</b>	<b>9,17±3,75 µmol/g Prot*</b>	HB
2	P. Luque et al.	1999	Schwein	UW <sup>12</sup>	während ECR nach Explant.	0,35±0,08	53,5±76	NHB
					<b>Maximalwert:</b>	<b>0,35±0,08</b>	53,5±76 Units	
3	M.M. van den Eijnden et al.	2003	Ratte	UW <sup>12</sup>	90min nach Explant.		0,78±0,04 µmol/g ww*	HB, ht <sup>25</sup>
					90min nach Explant.		1,48±0,23 µmol/g ww*	NHB
					<b>Maximalwert:</b>		<b>1,48±0,23 µmol/g ww*</b>	NHB
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>10,21 µmol/g Prot</b>	NHB
4	H.H. Wu et al.	2009	Ratte	keine Lsg.	1x 60min Abklemmen der A. renalis		1,1 µmol/g Prot	HB
					2x 30min Abklemmen der A. renalis		1,7 µmol/g Prot	
					4x 15min Abklemmen der A. renalis		1,3 µmol/g Prot	
					<b>Maximalwert:</b>		<b>1,7 µmol/g Prot</b>	

**Tabelle 10: Erhebung der EC- und ATP-Werte aus den in Kapitel 3.2.3 beschriebenen Arbeiten. Bei \* wurde die wahrscheinlichste Maßangabe angenommen.**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: siehe 3.2.3 Punkt 1) bis 4).

### 3.2.4 Herz

Im Folgenden werden 5 relevante Arbeiten bezüglich kardialen Energiehaushalts mit ausgewählten Literaturstellen und kurzer Inhaltsangabe besprochen.

<sup>24</sup> EURO Collins Lösung

<sup>25</sup> hirntot

1) *Myokardialer Schutz durch die Verwendung von L-Arginin und N- $\alpha$ -Acetyl-Histidin*

Durch kalte Ischämie ausgelöste myokardiale Schäden werden getriggert durch kalte Lagerung und der Aminosäure Histidin, ein wichtiger Bestandteil der Perfusionslösung HTK. In dieser Studie wurde die Effizienz einer mittels L-Arginin und N- $\alpha$ -Acetyl-Histidin modifizierten HTK-Lösung untersucht (HTK-1). Dafür wurde an 20 Ratten eine heterotope Herz-Transplantation durchgeführt. Nach 1 Stunde Ischämie und 1 Stunde Reperfusion wurden die myokardiale Funktion und der EC gemessen. Die myokardiale Funktion (z.B.: LV-Druck) bei HTK-1-Lösung zeigte im Vergleich zur üblichen HTK-Lösung signifikant bessere Werte. Ein signifikanter Unterschied zwischen den EC-Werten wurde nicht bestätigt. (62) (siehe Tabelle 11–1)

2) *Verwendung von Fruktose-1,6-Diphosphat während hypothermer Konservierung von Kaninchenherzen: Eine Studie über die energiereichen Phosphate*

In dieser Studie wurde der Effekt von Fruktose-1,6-Diphosphat (FDP) auf die energiereichen Phosphate untersucht. Dafür wurden Herzen von 42 Kaninchen explantiert und für 18 Stunden in St. Thomas-Lösung konserviert. Die Versuchsgruppe erhielt FDP während der Kontrollgruppe nur Fruktose zugesetzt wurde. Zum Vergleich wurde der EC und ATP-Gehalt des Myokards an einer Gruppe von Tieren ohne kalter Konservierung herangezogen (=Ausgangswert 100 %). Nach 18 Stunden sanken die energiereichen Phosphate des Myokards in beiden Konservierungs-Gruppen. Jedoch zeigte sich, dass der linksventrikuläre ATP Gehalt der Versuchsgruppe 33 % des Ausgangswertes, die der Kontrollgruppe hingegen nur 14 % betrug. Das bedeutet, dass ein FDP-Zusatz zur St. Thomas-Lösung einen milderen Abfall der energiereichen Phosphate zur Folge hat. (63) (siehe Tabelle 11–2)

3) *Veränderungen des oxydativen Stress‘ und des zellulären Redox-Potentials während myokardialer Ischämie bei Transplantation: Eine Experimentelle Studie*

Die Autoren der Studie nehmen an, dass sauerstofffreie Radikale eine Hauptursache für myokardialen Schaden bei längerer Ischämiezeit sind. Deshalb untersuchten sie das Auftreten von oxydativem Stress und Veränderungen des zellulären Redox-Potentials nach unterschiedlichen Perioden hypothermer Ischämie. Hierfür wurden Kaninchenherzen nach erfolgter Explantation für 5, 15 und 24 Stunden hypothermer Konservierung mittels Krebs-Henseleit-Lösung unterzogen. Die Erholung des ventrikulären Drucks, des EC und die Ratio der Pyridin-Nukleotide ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen den

Gruppen. Allerdings grenzte sich die 24 Stunden Gruppe von den 5 und 15 Stunden-Gruppen durch eine gesteigerte GSH/GSSG<sup>26</sup>-Ratio ab. (64) (siehe Tabelle 11-3)

4) *Deferoxamin, der neu entwickelte Eisen-Chelator LK-614 und N- $\alpha$ -Acetyl-Histidin als myokardialer Schutz*

Während kalter Konservierung von Spender-Herzen zeigt das Redox-aktive, chelatfähige Eisen seine Potenz bezüglich Veränderung der myokardialen Funktion. Um die Gewebeschädigung durch Ischämie und Reperfusion zu vermindern, untersuchten die Autoren der Studie die Effizienz von N- $\alpha$ -Acetyl-Histidin und dem Eisen-Chelator als Zusatz zur herkömmlichen HTK-Lösung. Rattenherzen wurden explantiert, 1 Stunde konserviert und nach 1 Stunde Reperfusion auf ihren Gewebsschaden untersucht. Es zeigte sich, dass der Linksventrikel-Druck der modifizierten HTK-Lösung gegenüber der Kontrollgruppe signifikant höher ist. Eine Verbesserung des EC konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Die Kombination von HTK mit N- $\alpha$ -Acetyl-Histidin und dem Eisen-Chelator führte aber zur Verbesserung der Linksventrikel-Kontraktilität. (65) (siehe Tabelle 11-4)

5) *Transplantats-Konservierung beim leeren, schlagenden Herzen unter milder Hypothermie*

Kardiale Eingriffe beim leeren aber schlagenden Herz haben sich als guter myokardialer Schutz erwiesen. Die Autoren der Studie nahmen an, dass selbige Tatsache auch für die kardiale Transplantatsspende gilt. Dafür wurden 12 Schweine in zwei Gruppen unterteilt. Einerseits in eine Gruppe A mit leukozytenarmem Blut bei schlagendem Herz und andererseits in eine Gruppe B, die durch UW-Lösung bei nicht schlagendem Herzen konserviert wurde. Nach 8 Stunden wurden myokardiale Proben entnommen, die eine signifikante Erhöhung der ATP Level in der Gruppe A zeigten. Der myokardiale Wassergehalt zeigte aber ebenso wie der Schaden der myokardialen Ultratraktur keinen signifikanten Unterschied der beiden untersuchten Gruppen. (66) (siehe Tabelle 11-5)

---

<sup>26</sup> Verhältnis zwischen Glutathion und seinem Oxydationsprodukt Glutathion-Disulfid

Energiehaushalt Herz								
Publ.	Autor	Jahr	Spezies	Lösung	Messungszeitpunkt	EC	ATP	Donor
1	A. Koch et al.	2009	Ratte	HTK <sup>8</sup>	1h nach Reperfusion	0,36±0,2	1,73±1,15 µmol/g ww*	HB
					<b>Maximalwert:</b>	<b>0,36±0,2</b>	<b>1,73±1,15 µmol/g ww*</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>15,21 µmol/g Prot</b>	
2	D. Hua et al.	2003	Kaninchen	keine Lsg.	in vivo	0,75	4,42±0,36 µmol/g ww	HB
				St. Thomas + FDP <sup>27</sup>	nach 18h kK <sup>9</sup>	0,58±0,03	1,45±0,11 µmol/g ww	
				keine Lsg.	<b>Maximalwert:</b>	<b>0,75</b>	<b>4,42±0,36 µmol/g ww</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>38,87 µmol/g Prot</b>	
3	A. Cargnoni et al.	1999	Kaninchen	KH <sup>13</sup>	nach 5h kK <sup>9</sup>	0,67±0,04	8,58±0,72 µmol/g dw	HB
					nach 5h kK <sup>9</sup> + 75min Reperf.	0,81±0,02	6,44±0,78 µmol/g dw	
					nach 15h kK <sup>9</sup>	0,32±0,04	4,20±0,88 µmol/g dw	
					nach 15h kK <sup>9</sup> + 75min Reperf.	0,81±0,02	5,24±0,91 µmol/g dw	
					nach 24h kK <sup>9</sup>	0,20±0,03	2,47±0,32 µmol/g dw	
					nach 24h kK <sup>9</sup> + 75min Reperf.	0,77±0,01	4,49±0,36 µmol/g dw	
					<b>Maximalwert:</b>	<b>0,81±0,02</b>	<b>8,58±0,72 µmol/g dw</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>12,67 µmol/g Prot</b>	
4	A. Koch et al.	2010	Ratte	HTK <sup>8</sup>	nach 1h Ischämie + 1h Reperf.	0,36±0,21	1,7±1,1 µmol/g ww*	HB
					<b>Maximalwert:</b>	<b>0,36±0,21</b>	<b>1,7±1,1 µmol/g ww*</b>	
					<b>µmol/g Prot</b>		<b>14,95 µmol/g Prot</b>	
5	H. Lin et al.	2010	Schwein	UW <sup>12</sup>	nach 8h kK <sup>9</sup>		0,83±1,02 µmol/g Prot	HB
				UW <sup>12</sup> + Lkzt. <sup>28</sup> -armes Blut	nach 8h kK <sup>9</sup> bei Verwendung von künstlicher ex-vivo Pumpe		37,83±9,02 µmol/g Prot	
				<b>Maximalwert:</b>		<b>37,83±9,02 µmol/g Prot</b>		

**Tabelle 11: Erhebung der EC- und ATP-Werte aus den in Kapitel 3.2.4 beschriebenen Arbeiten. Bei \* wurde die wahrscheinlichste Maßangabe angenommen.**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: siehe 3.2.4 Punkt 1) bis 5).

### 3.3 Ergebnisse des Tierversuchs

Quelle: (1)

#### 3.3.1 Energiestatus der Leber von Lebendspendern im Vergleich zu hirntoten und NHBD Tieren

Der hepatische ATP Gehalt von hirntoten Spendern (HTS) war im Vergleich zu NHBD und Lebendspendern (LS) vor Perfusion ( $p < 0,001$ ) und im Vergleich zu NHBD nach Per-

<sup>27</sup> Fruktose-1,6-Diphosphat

<sup>28</sup> Leukozyten

fusion ( $p < 0,05$ ) signifikant höher. Das ATP sank im Laufe des Versuchs (statistisch signifikant bei LS vor Perfusion verglichen zu nach Ischämie ( $p < 0,01$ )). Ähnliche Ergebnisse waren auch bei ADP zu finden (statistische signifikant höher bei HTS vor Perfusion im Vergleich zu NHBD ( $p < 0,001$ ), sowie ein signifikanter ADP-Abfall nach 6 Stunden hepatischer Ischämie bei HTS und LS (jeweils  $p < 0,05$  und  $p < 0,01$ )). Ein diesbezüglicher Trend wurde auch für den EC und die ATP/ADP-Ratio festgestellt, wobei hier keine statistische Signifikanz vorlag. Für AMP konnten keine signifikanten Änderungen zwischen den unterschiedlichen Spenderarten und Biopsiezeiten nachgewiesen werden. (siehe Tabelle 12)

Tierversuch Leber				
Wert	Spender	Vor Perfusion	Nach Perfusion	Nach 6h Ischämie
ATP	LS	5,80±0,78	2,78±0,50	1,21±0,14
	HTS	12,51±2,34***,###	8,22±1,44#	4,45±1,20
	NHBD	2,71±0,54	2,97±0,98	0,77±0,09
ADP	LS	7,40±0,66	6,80±1,30	3,45±0,53°
	HTS	10,40±1,19***	8,51±1,18	5,52±0,97°
	NHBD	4,16±0,54	4,70±0,53	2,42±0,17
AMP	LS	9,13±0,74	13,91±3,15	11,43±0,98
	HTS	10,76±1,19	10,51±0,97	12,53±0,77
	NHBD	9,44±0,55	11,67±0,94	11,54±1,79
EC	LS	0,42±0,04	0,26±0,02	0,26±0,06
	HTS	0,51±0,05	0,44±0,05	0,31±0,05
	NHBD	0,29±0,03	0,25±0,05	0,15±0,02

**Tabelle 12: Vergleich von hepatischem ATP, ADP und AMP sowie EC bei LS, HTS und NHBD vor und nach Perfusion sowie nach 6 Stunden Ischämie (in  $\mu\text{mol/g Prot}$ )**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (1)

### 3.3.2 Energiestatus des Pankreas von Lebendspendern im Vergleich zu hirntoten und NHBD Tieren

Der ATP Gehalt der Pankreasproben war vor Perfusion bei LS im Vergleich zu HTS oder NHBD signifikant höher ( $p < 0,001$ ) und sank signifikant im Laufe der Zeit (nach Perfusion  $p < 0,05$  und nach 6 Stunden Ischämie  $p < 0,01$ ). Der pankreatische ATP Gehalt von NHBD Tieren war nach 6 Stunden Ischämie im Vergleich zu vor der Perfusion signifikant niedriger. Der ADP Gehalt von LS war vor Perfusion im Vergleich zu HTS signifikant höher ( $p < 0,01$ ) und sank im Laufe der Zeit signifikant (nach Perfusion  $p < 0,05$  und nach 6 Stunden Ischämie  $p < 0,01$ ). Auch die ATP/ADP Ratio sank im Laufe der Zeit signifikant bei LS (nach Perfusion  $p < 0,05$  und 6 Stunden nach Ischämie  $p < 0,01$ ). Für AMP konnten

keine signifikanten Änderungen zwischen den unterschiedlichen Spenderarten und Biopsiezeiten nachgewiesen werden. (siehe Tabelle 13)

Tierversuch Pankreas				
Wert	Spender	Vor Perfusion	Nach Perfusion	Nach 6h Ischämie
ATP	LS	14,49±1,88	2,99±0,47 <sup>^</sup>	3,06±0,52 <sup>^^</sup>
	HTS	5,86±0,47 <sup>***</sup>	6,22±0,44	4,33±0,84
	NHBD	7,67±1,18 <sup>***</sup>	5,05±1,18	2,44±0,51 <sup>^</sup>
ADP	LS	8,72±1,84	4,46±0,91 <sup>°</sup>	4,36±0,44 <sup>°°</sup>
	HTS	3,80±0,48 <sup>**</sup>	4,37±0,32	3,00±0,56
	NHBD	5,23±0,55	4,86±0,52	3,94±0,61
AMP	LS	4,79±2,37	6,23±2,60	7,98±1,66
	HTS	6,58±1,11	6,83±0,63	8,46±0,71
	NHBD	7,26±1,06	8,08±0,59	10,24±1,23
EC	LS	0,69±0,07	0,43±0,07	0,38±0,05 <sup>^</sup>
	HTS	0,49±0,03	0,49±0,02	0,36±0,04
	NHBD	0,49±0,07	0,43±0,04	0,26±0,04 <sup>^^</sup>

**Tabelle 13: Vergleich von pankreatischem ATP, ADP und AMP sowie EC bei LS, HTS und NHBD vor und nach Perfusion sowie nach 6 Stunden Ischämie (in  $\mu\text{mol/g Prot}$ )**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (1)

### 3.3.3 Energiestatus der Niere von Lebendspendern im Vergleich zu hirntoten und NHBD Tieren

Der renale ATP Gehalt war bei HTS vor und nach Perfusion im Vergleich zu den NHBD Proben signifikant höher ( $p < 0,05$  bzw.  $p < 0,01$ ). Bezüglich des EC und der ATP/ADP Ratio konnten keine statistisch signifikanten Änderungen beobachtet werden. Der ADP Gehalt nach Perfusion war bei LS im Vergleich zu NHBD signifikant höher ( $p < 0,05$ ). Der AMP Gehalt nach Perfusion war bei LS oder HTS im Vergleich zu NHBD signifikant höher ( $p < 0,001$ ). (siehe Tabelle 14)

Tierversuch Niere				
Wert	Spender	Vor Perfusion	Nach Perfusion	Nach 12h Ischämie
ATP	LS	3,14±1,35	4,17±1,68	1,89±0,79
	HTS	6,39±0,44 <sup>#</sup>	5,71±0,78 <sup>##</sup>	1,39±0,24
	NHBD	2,26±0,43	1,03±1,18	0,58±0,07
ADP	LS	7,67±1,37	7,56±2,55 <sup>#</sup>	3,52±0,74
	HTS	6,40±0,79	5,35±0,73	3,49±0,68
	NHBD	3,20±0,43	2,13±0,16	1,86±0,18
AMP	LS	10,67±1,35	14,82±1,91 <sup>###</sup>	12,44±1,31
	HTS	10,11±1,02	12,94±1,70 <sup>##</sup>	12,04±0,88
	NHBD	5,43±0,64	6,58±0,54	7,38±0,56
EC	LS	0,37±0,08	0,28±0,04	0,20±0,05
	HTS	0,43±0,03	0,32±0,03	0,18±0,02
	NHBD	0,35±0,03	0,22±0,02	0,15±0,01

**Tabelle 14: Vergleich von renalem ATP, ADP und AMP sowie EC bei LS, HTS und NHBD vor und nach Perfusion sowie nach 12 Stunden Ischämie (in  $\mu\text{mol/g Prot}$ )**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (1)

### 3.3.4 Energiestatus des Herzens von Lebendspendern im Vergleich zu hirntoten und NHBD Tieren

Sowohl der ATP und ADP Gehalt als auch der EC und die ATP/ADP Ratio waren bei NHBD im Vergleich zu HTS oder LS vor und/oder nach Perfusion signifikant niedriger. Der AMP Gehalt blieb unverändert. Der Vergleich von LS und NHBD ist hier aus rein wissenschaftlichem Interesse erfolgt. (siehe Tabelle 15)

Tierversuch Herz				
Wert	Spender	Vor Perfusion	Nach Perfusion	Nach 4h Ischämie
PKr	LS	23,36±7,27	12,43±3,83	6,18±3,39
	HTS	52,32±15,20 <sup>^, #</sup>	40,25±12,76	4,35±1,88
	NHBD	10,70±36,40	5,88±1,52	-
ATP	LS	30,92±1,88	24,95±3,50 <sup>##</sup>	22,94±2,72
	HTS	35,80±3,08 <sup>***, ###</sup>	27,68±4,08 <sup>#</sup>	26,89±5,41
	NHBD	5,37±1,93	6,21±2,43	-
ADP	LS	8,70±0,45 <sup>#</sup>	8,35±1,06 <sup>#</sup>	8,36±0,62
	HTS	8,34±0,27	6,93±0,74	9,73±1,21
	NHBD	3,22±0,77	3,79±0,98	-
AMP	LS	1,70±0,38	2,21±0,39	3,91±0,92
	HTS	2,12±0,16	1,86±0,34	3,89±1,15
	NHBD	2,37±0,40	2,68±0,40	-
EC	LS	0,85±0,01 <sup>#</sup>	0,81±0,02	0,71±0,06
	HTS	0,86±0,01	0,85±0,01	0,80±0,03
	NHBD	0,49±0,05	0,49±0,06	-

**Tabelle 15: Vergleich von kardialem PKr, ATP, ADP und AMP sowie EC bei LS, HTS und NHBD vor und nach Perfusion sowie nach 4 Stunden Ischämie (in  $\mu\text{mol/g Prot}$ )**

Quelle: Eigene Darstellung, Daten: (1)

Der EC ergibt sich aus der in 1.4 beschriebenen Relation.

\*  $p < 0,05$  verglichen zum LS

\*\*  $p < 0,01$  verglichen zum LS

\*\*\*  $p < 0,001$  verglichen zum LS

#  $p < 0,05$  verglichen zum NHBD

##  $p < 0,01$  verglichen zum NHBD

###  $p < 0,001$  verglichen zum NHBD

°  $p < 0,05$  verglichen zu vor der Perfusion

°°  $p < 0,01$  verglichen zu vor der Perfusion

°°°  $p < 0,001$  verglichen zu vor der Perfusion

^  $p < 0,05$  verglichen zu nach der Perfusion

^^  $p < 0,01$  verglichen zu nach der Perfusion

^^^  $p < 0,001$  verglichen zu nach der Perfusion

## 4 DISKUSSION

### 4.1 Diskussion der Literaturrecherche

Das Ziel dieser Arbeit war die Ergebnisse der in 3.3 beschriebenen Tierversuche darzustellen und mit bisherigen Studien zu vergleichen. Ein Großteil der in der Literaturrecherche erfassten Artikel befasst sich mit dem Vergleich unterschiedlicher Perfusionslösungen beziehungsweise deren Einfluss auf den Energiestatus. Dies scheint derzeit in der Literatur einen wesentlichen Teil in der Optimierung der Transplantation auszumachen.

Die in den einzelnen Artikeln erhobenen Werte stellen einen guten Vergleichswert für die durchgeführten Tierversuche dar und dienen als Maß für die Qualität der selbigen. Als Schwierigkeit stellte sich allerdings die mangelnde Angabe der Gewichtseinheit dar. Von 26 eruierten Artikeln wurden in 12 der ATP Gehalt in  $\mu\text{mol/g}$  (bzw.  $\text{nmol/mg}$ ) angegeben ohne darzustellen, ob es sich um g ww, g dw oder g Prot handelt. Die weitreichenden Relationen zwischen diesen Angaben sind in Tabelle 7 angeführt. In einem weiteren Artikel wurde von ATP-„Units“ gesprochen, sodass dieser nicht zum Vergleich herangezogen werden kann.

Vergleicht man nun die Ergebnisse des durchgeführten Tierversuchs mit den Werten aus der Literaturrecherche kann man von einer hohen Qualität bei der Durchführung der Studie sprechen. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit der energiereichen Phosphate während der Bearbeitung der Gewebeproben und der teilweise sehr niedrigen Werten in den einzelnen Artikeln, ist zu überlegen, ob die Ergebnisse einiger Artikel den tatsächlichen Wert im Organ widerspiegeln oder es zu einem Einfluss auf den Energiestatus durch die Probenbearbeitung kam.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass das teilweise Fehlen der Gewichtsangaben in den einzelnen Artikeln den Vergleich erschwerte, trotzdem aber das Fazit gezogen werden kann, dass in der beschriebenen Studie mit einem hohen Maß an Qualität gearbeitet wurde.

## 4.2 Diskussion des Tierversuchs

Quelle: (1)

Die Studie zeigte, dass in allen vier Organen, also Leber, Pankreas, Niere und Herz der Gehalt an energiereichen Phosphaten von HTS dem der LS entsprach. Wie erwartet zeigten die Organe von NHBD einen etwas niedrigeren Gehalt an energiereichen Phosphaten. Weiters konnte in allen Organen und bei allen Spendern das Sinken der energiereichen Phosphate und ein Ansteigen derer Abbauprodukte im Laufe der Zeit beobachtet werden.

In der Literatur gibt es kontroverielle Darstellungen bezüglich des Einflusses auf die hepatische Funktion bei Organen von HTS. Bei Studien an Nagern konnte eine verminderte Organfunktion bei HTS nachgewiesen werden. Diese zeigte sich aber nicht bei Studien an größeren Tieren und Menschen (67). Weiters kann der EC als ein wertvoller Marker in der Beurteilung der Transplantats-Viabilität angesehen werden (68). Um einen möglichst hohen hepatischen EC bei HTS zu erhalten ist ein adäquates Management der Hypotension und der Hämodilution von Nöten (69,70). Diese Ergebnisse konnten bei der durchgeführten Studie untermauert werden. Bei angemessener Spenderpflege war der ATP und ADP Gehalt von HTS im Vergleich zu LS vor und/oder nach der Perfusion signifikant höher. Derselbe Trend konnte beim EC gezeigt werden, wobei dieser eine statistische Signifikanz rein nach der Perfusion aufwies. Nach 6 Stunden Ischämie konnte kein statistisch signifikanter Unterschied im Energiestatus zwischen HTS und LS festgestellt werden. Beachtenswerterweise wiesen die energiereichen Phosphate auch beim NHBD keine nennenswerte Reduktion auf.

Bei ausführlicher Literatursuche konnten keine Daten zu bisherigen Studien bezüglich eines pankreatischen Energiestatus‘ bei HTS eruiert werden. Der Einfluss von ATP Gehalt und EC am Ende der kalten Ischämie auf die Pankreasfunktion ist aber nachgewiesen (71). Im Gegensatz zu Herz und Leber wurden beim Pankreas bei HTS ein niedrigerer ATP und ADP Gehalt vor der Perfusion nachgewiesen. Nach der Perfusion und nach 6 Stunden Ischämie war dieser Unterschied aber aufgehoben.

Bei Versuchen an Nagern wurde festgestellt, dass der Hirntot im Vergleich zu LS zu einer Schädigung der renalen Funktion führt (60). Ähnlich der Leber ist einer der wesentlichen Prädiktoren für die spätere Organfunktionalität die hämodynamische Instabilität bei HTS (72). Weiters konnte gezeigt werden, dass die kalte Ischämie selbst einen negativen Ein-

fluss auf die Viabilität der Niere bei hirntoten Nagern haben kann (73). Bezüglich des renalen Energiestatus‘ beim HTS existiert wenig Literatur, behandelt wird hier vor allem die Wirkung der unterschiedlichen Perfusionslösungen, wobei die UW-Lösung derzeit die beste Energieerhaltung bei der Niere zu bieten scheint (74). In der beschriebenen Studie wurde gezeigt, dass das renale Gewebe bei HTS verglichen zu LS und NHBD den höchsten Gehalt an energiereichen Phosphaten sowohl vor als auch nach Perfusion bietet. Nach 12 Stunden Ischämie konnten zwischen den Spender-Gruppen keine signifikanten Unterschiede dargestellt werden.

Beim Herz konnte kein Unterschied des ATP Gehaltes und des EC zwischen HTS und LS festgestellt werden. In der Literatur wird der Einfluss von Herzen hirntoter Spender auf die kardiale Funktion widersprüchlich diskutiert. Verglichen zu frisch explantierten Schweineherzen zeigen die Herzen von HTS-Tieren eine 40%-ige Reduktion des kardialen Auswurfs, ohne eine Veränderungen des ATP Haushalts (75). Trotz der Schädigung der kardialen Funktion bei HTS, konnte ex vivo eine totale funktionelle Erholung beobachtet werden (76,77). Es ist bekannt, dass der Gehalt an energiereichen Phosphaten mit der postoperativen kardialen Funktion korreliert (78). In der durchgeführten Studie konnte bei HTS vor der Perfusion im Vergleich zu LS zusätzlich auch ein signifikant höherer Gehalt an Phosphokreatin nachgewiesen werden, was einen notwendigen Puffer zur ATP-Regeneration darstellt. Erwartungsgemäß zeigten Herzen von NHBD einen signifikant niedrigeren Gehalt an energiereichen Phosphaten im Vergleich zu HTS und LS.

Die erhobenen Daten der Studien lassen darauf schließen, dass HTS-Organen im Vergleich keine Minderung des Energiestatus‘ mit sich bringen, im Gegenteil zeigt sich eher ein positiver Effekt auf den Energiehaushalt. Dies mag paradox klingen, unter anderem ist aber bekannt, dass ischämische Präkonditionierung einen positiven Effekt auf den Energiemetabolismus des betroffenen Gewebes hat (79,80). Der Hirntod mit seinen pathophysiologischen Veränderungen (siehe 1.5) könnte eine ähnliche Wirkungsweise bei der Organtransplantation haben. Der Hirntod selbst führt zu einer massiven Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und Katecholaminen sowie zur Produktion von freien Sauerstoffradikalen (17,81). Diese Einflüsse scheinen auch bei der ischämischen Präkonditionierung eine Rolle zu spielen (82). Deshalb kann die Hypothese gestellt werden, dass der Hirntod nicht zwingenderweise einen negativen Einfluss auf die Organqualität bei der Transplantation haben muss. Dieser Denkansatz wird von Studien unterstützt, die einen positiven Effekt bei Nierentransplantation durch Verlängerung des Hirntodes beobachteten (83,84). Experi-

mentelle Studien zeigten weiters, dass der Hirntod zu einer Bildung von zytoprotektiven Genen führt (17).

In der beschriebenen Studie konnte bei allen Organen eine Minderung der energiereichen Phosphate sowie des EC sowohl nach der Perfusion als auch nach der Ischämiezeit beobachtet werden. Bei Leber und Pankreas kam es zu einer signifikanten Reduktion des ATP und ADP, bei der Niere zeigte im Laufe der Zeit das ADP eine leichte, das ATP eine signifikante Minderung. Beim Herzen kam es zu einer signifikanten Phosphokreatinreduktion, ATP und ADP blieben weitgehend stabil, selbst nach 4 Stunden Ischämiezeit. Diese Ergebnisse stimmen mit bisherigen Studien überein (85-87).

Als eine Einschränkung lässt die beschriebene Studie allerdings die Frage offen, ob ein besserer Energiestatus vor oder nach Perfusion oder nach Ischämie zu einer besseren Transplantats-Funktion bzw. zu einer besseren Überlebensrate führt. Man kann aus den Daten der Studie somit zusammenfassen, dass es zu einem Abfall der energiereichen Phosphate über die Zeit kommt und dass kein Unterschied zwischen hirntoten Spendern und Lebendspendern festzumachen ist.

In einer Studie ergeben sich Hinweise, dass Organempfänger (meist bei Nierentransplantation) von LS eine bessere Überlebensrate im Vergleich zu Leichenspendern haben, selbst wenn der Spender und Empfänger keine gute immunologische Übereinstimmung mit sich bringen (17). Aus dieser Tatsache kann man schließen, dass der Gehalt an energiereichen Phosphaten nicht alleine maßgebend für die Überlebensrate sein kann. Weitere mögliche Einflüsse wären die leichtere Planbarkeit des Eingriffs beim LS sowie die psychologisch wichtige Tatsache, dass die Empfänger die Spender kennen.

Zusammenfassend zeigen die Daten der Studie, dass der Hirntod keinen negativen Einfluss auf den Energiestatus des Gewebes von Leber, Pankreas, Niere und Herz hat. Daraus ergibt sich die Tatsache, dass keine Notwendigkeit zur möglichst raschen Organexplantation beim HTS gegeben ist, da der Hirntod – entgegen der üblichen Meinung - keinen schädigenden Einfluss auf die Organqualität hat. Bei Leber, Pankreas und Herz schien der Hirntod im Vergleich zum LS zu einem besseren Energiestatus zu führen. Wie erwartet sank nach Perfusion und Ischämiezeit der Gehalt an energiereichen Phosphaten. Eine möglichst kurze Ischämiezeit ist also anzustreben.

Auch wenn mit dieser Studie keine Aussagen über den Einfluss der Spenderart auf die Organfunktionalität nach Implantation geliefert werden, bieten die Daten einen Neuwert bezüglich des Energiestatus‘ von verschiedenen Spenderorganen zu verschiedenen Zeiten. Hilfreich bei der Erhaltung eines möglichst hohen Energiegehalts während und vor allem nach der Ischämiezeit können dabei neuartige Kardioplegie- und Perfusionslösungen sein.

Als Fazit zeigen die erhobenen Daten, dass der Energiestatus der Organe nach anhaltender Ischämiezeit vergleichbar und unabhängig von der Spenderart ist.

# LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Stadlbauer V, Stiegler P, Taeubl P, Sereinigg M, Puntschart A, Bradatsch P, et al. Brain dead, non-heart beating and living donor organs do not differ in their energy status after average tolerable ischemia. under review 2011.
- (2) Barry JM, Murray JE. The first human renal transplants. J Urol 2006 Sep;176(3):888-890.
- (3) Leimer H. Standards der Intensivpflege; mit Grundstandards der allgemeinen Pflege. Wien [u.a.]: Springer; 1998.
- (4) [www.dso.de](http://www.dso.de). Neuanmeldungen und Lebertransplantationen. 06.03.2010; Available at: [www.dso.de](http://www.dso.de). Accessed Juli/26, 2010.
- (5) [www.dso.de](http://www.dso.de). Bedarf an Spenderorganen. 2010; Available at: [www.dso.de](http://www.dso.de). Accessed 07/27, 2010.
- (6) Largiadèr F. Checkliste Organtransplantation. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 1996.
- (7) Krukemeyer MG. Transplantationsmedizin; ein Leitfaden für den Praktiker. 1st ed. Berlin [u.a.]: de Gruyter; 2006.
- (8) Manuel Gonzalez-Posada J, Marrero D, Hernandez D, Coll E, Perez Tamajon L, Gutierrez P, et al. Pancreas transplantation: differences in activity between Europe and the United States. Nephrol Dial Transplant 2010 Mar;25(3):952-959.
- (9) [www.dso.de](http://www.dso.de). Transplantationen ohne Lebendspenden in Deutschland, 2008-2010. 2011; Available at: [www.dso.de](http://www.dso.de). Accessed 04/03, 2011.
- (10) Halpin Dea editor. Chronic Kidney Disease. 1st ed. London: Royal College of Physicians of London; 2008.
- (11) Schmid C, Hirt S, Scheld HH. Leitfaden Herztransplantation; Interdisziplinäre Betreuung vor, während und nach Herztransplantation. Heidelberg: Steinkopff; 2009.
- (12) Erdmann E. Klinische Kardiologie; Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße. 7th ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009.
- (13) Hoppe, Uta C. et al. Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. Zeitschrift für Kardiologie 2005;94(8):27/07/2010.
- (14) OSR Österreich. Empfehlungen zur Durchführung der Hirntoddiagnostik bei einer geplanten Organentnahme. 2005.
- (15) Rotondo R. Gesetzliche Regelungen der europäischen Staaten, den USA, Japan und den Vereinigten Arabischen Emiraten zur Organtransplantation

. 2006; Available at: [http://www.transplantation-information.de/gesetze\\_organspende\\_transplantation/ausland\\_gesetze/gesetze.html](http://www.transplantation-information.de/gesetze_organspende_transplantation/ausland_gesetze/gesetze.html). Accessed 08/22, 2010.

(16) Körtner U. Organtransplantation aus ethischer Sicht. Available at: [http://www.transplantation.meduniwien.ac.at/transplantation/index.php?get\\_link=8\\_&get\\_topitem=Ethik&get\\_subitem=&get\\_lang=de\\_&get\\_id=12](http://www.transplantation.meduniwien.ac.at/transplantation/index.php?get_link=8_&get_topitem=Ethik&get_subitem=&get_lang=de_&get_id=12). Accessed 08/22, 2010.

(17) Bos EM, Leuvenink HG, van Goor H, Ploeg RJ. Kidney grafts from brain dead donors: Inferior quality or opportunity for improvement? *Kidney Int* 2007 Oct;72(7):797-805.

(18) Futagawa Y, Waki K, Gjertson DW, Terasaki PI. Living-unrelated donors yield higher graft survival rates than parental donors. *Transplantation* 2005 May 15;79(9):1169-1174.

(19) Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. *N Engl J Med* 1995 Aug 10;333(6):333-336.

(20) Hricik DE. Kidney Transplantation. 2003 April (Remedica State of the Art Series).

(21) Buente H, Juenger F. Organischer Stoffwechsel, Energiestoffwechsel - Die vier Kompartimente des Energiesystems. 2010; Available at: [http://www.med-college.de/de/wiki/version.php?id=537&v\\_id=1892&lan=1](http://www.med-college.de/de/wiki/version.php?id=537&v_id=1892&lan=1). Accessed 04/10, 2011.

(22) Koolman J, Röhm K. Taschenatlas der Biochemie. 3.. ed. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2003.

(23) Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, et al. Lehrbuch der molekularen Zellbiologie; [der "kleine" Alberts]. 3.th ed. Weinheim: Wiley-VCH Verl; 2005.

(24) MITCHELL P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature* 1961 Jul 8;191:144-148.

(25) Loeffler G, Petrides PE, Heinrich PC editors. Biochemie und Pathobiochemie. 8.. ed. Heidelberg, Deutschland: Springer; 2007.

(26) Lanir A, Jenkins RL, Caldwell C, Lee RG, Khettry U, Clouse ME. Hepatic transplantation survival: correlation with adenine nucleotide level in donor liver. *Hepatology* 1988 May-Jun;8(3):471-475.

(27) Hirata T, Fukuse T, Nakamura T, Ueda M, Kawashima M, Hitomi S, et al. Reperfusion lung injury after cold preservation correlates with decreased levels of intrapulmonary high-energy phosphates. *Transplantation* 2000 May 15;69(9):1793-1801.

(28) Mertes PM, Carteaux JP, Jaboin Y, Pinelli G, el Abassi K, Dopff C, et al. Estimation of myocardial interstitial norepinephrine release after brain death using cardiac microdialysis. *Transplantation* 1994 Feb;57(3):371-377.

(29) Arita K, Uozumi T, Oki S, Kurisu K, Ohtani M, Mikami T. The function of the hypothalamo-pituitary axis in brain dead patients. *Acta Neurochir (Wien)* 1993;123(1-2):64-75.

- (30) Chen EP, Bittner HB, Kendall SW, Van Trigt P. Hormonal and hemodynamic changes in a validated animal model of brain death. *Crit Care Med* 1996 Aug;24(8):1352-1359.
- (31) Gramm HJ, Meinhold H, Bickel U, Zimmermann J, von Hammerstein B, Keller F, et al. Acute endocrine failure after brain death? *Transplantation* 1992 Nov;54(5):851-857.
- (32) Hallstrom S, Gasser H, Neumayer C, Fugl A, Nanobashvili J, Jakubowski A, et al. S-nitroso human serum albumin treatment reduces ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle via nitric oxide release. *Circulation* 2002 Jun 25;105(25):3032-3038.
- (33) Pelzmann B, Hallstrom S, Schaffer P, Lang P, Nadlinger K, Birkmayer GD, et al. NADH supplementation decreases pinacidil-primed I K ATP in ventricular cardiomyocytes by increasing intracellular ATP. *Br J Pharmacol* 2003 Jun;139(4):749-754.
- (34) Furst W, Hallstrom S. Simultaneous determination of myocardial nucleotides, nucleosides, purine bases and creatine phosphate by ion-pair high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1992 Jul 1;578(1):39-44.
- (35) Kissane JM, Brodin SE. Enzymatic Activity of pancreatic islets and acini in normal and Tolbutamide-treated rats. *J Histochem & Cytochem* 1963.
- (36) Pulliainen E, Tunkkari PS. Seasonal changes in the weight and composition of the liver of the willow grouse (*Lagopus lagopus*) in the far north of Finland. *Ann Zool Fennici* 1984.
- (37) Otani T, Matsukura A, Takamoto T, Seyama Y, Shimizu Y, Shinomiya M, et al. Effects of pancreatic duct ligation on pancreatic response to bombesin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006 Apr;290(4):G633-9.
- (38) Gagerman E. Determination of pancreatic islet mass by measurement of native protein fluorescence. *Anal Biochem* 1980 Jan 15;101(2):494-497.
- (39) Weinberg JM, Harding PG, Humes HD. Alterations in renal cortex cation homeostasis during mercuric chloride and gentamicin nephrotoxicity. *Exp Mol Pathol* 1983 Aug;39(1):43-60.
- (40) Bessho M, Ohsuzu F, Yanagida S, Sakata N, Aosaki N, Tajima T, et al. Differential extractability of creatine phosphate and ATP from cardiac muscle with ethanol and perchloric acid solution. *Anal Biochem* 1991 Jan;192(1):117-124.
- (41) Corps CL, Shires M, Crellin D, Smolenski R, Pratt J, Potts D, et al. Histidine-tryptophan-ketoglutarate and delayed graft function after prolonged cold ischemia. *Transplant Proc* 2009 Nov;41(9):3567-3570.
- (42) Stegemann J, Minor T. Energy charge restoration, mitochondrial protection and reversal of preservation induced liver injury by hypothermic oxygenation prior to reperfusion. *Cryobiology* 2009 Jun;58(3):331-336.

- (43) Stegemann J, Hirner A, Rauen U, Minor T. Gaseous oxygen persufflation or oxygenated machine perfusion with Custodiol-N for long-term preservation of ischemic rat livers? *Cryobiology* 2009 Feb;58(1):45-51.
- (44) Iwane T, Akamatsu Y, Narita T, Nakamura A, Satomi S. The effect of perfusion prior to cold preservation and addition of biliverdin on the liver graft from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 2006 Dec;38(10):3358-3361.
- (45) Li XL, Man K, Ng KT, Lee TK, Lo CM, Fan ST. Insulin in UW solution exacerbates hepatic ischemia / reperfusion injury by energy depletion through the IRS-2 / SREBP-1c pathway. *Liver Transpl* 2004 Sep;10(9):1173-1182.
- (46) So PW, Fuller BJ. Enhanced energy metabolism during cold hypoxic organ preservation: studies on rat liver after pyruvate supplementation. *Cryobiology* 2003 Jun;46(3):295-300.
- (47) Mitchell SJ, Churchill TA, Winslet MC, Fuller BJ. Energy metabolism following prolonged hepatic cold preservation: benefits of interrupted hypoxia on the adenine nucleotide pool in rat liver. *Cryobiology* 1999 Sep;39(2):130-137.
- (48) Koetting M, Leuvenink H, Dombrowski F, Minor T. Gaseous persufflation with carbon monoxide during ischemia protects the isolated liver and enhances energetic recovery. *Cryobiology* 2010 Aug;61(1):33-37.
- (49) Ma Y, Wu LW, Wu JL, Liang YJ, Zhu ZY, Hu RD, et al. Energy metabolism and survival of liver grafts from non-heart-beating donor rats with warm ischemia injury. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006 Nov;5(4):521-525.
- (50) Gu M, Takada Y, Fukunaga K, Ishiguro S, Taniguchi H, Seino K, et al. Pharmacologic graft protection without donor pretreatment in liver transplantation from non-heart-beating donors. *Transplantation* 2000 Oct 15;70(7):1021-1025.
- (51) Kong R, Gao Y, Sun B, Chen H, Wang G, Wang X, et al. The Strategy of Combined Ischemia Preconditioning and Salvianolic Acid-B Pretreatment to Prevent Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Dig Dis Sci* 2009 Jan 21.
- (52) Nakamura A, Akamatsu Y, Miyagi S, Fukumori T, Sekiguchi S, Satomi S. A free radical scavenger, edaravone, prevents ischemia-reperfusion injury in liver grafts from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 2008 Sep;40(7):2171-2174.
- (53) Mirbolooki MR, Alexander M, Hoyt DB, Lakey JR. Pancreatic duct: A suitable route to oxygenate tissue during pancreas hypothermic preservation? *Transpl Immunol* 2010 Feb;22(3-4):191-194.
- (54) Terai S, Tsujimura T, Li S, Hori Y, Toyama H, Shinzaki M, et al. Effect of oxygenated perfluorocarbon on isolated islets during transportation. *J Surg Res* 2010 Aug;162(2):284-289.

- (55) Ishii S, Sato Y, Terashima M, Saito T, Suzuki S, Murakami S, et al. A novel method for determination of ATP, ADP, and AMP contents of a single pancreatic islet before transplantation. *Transplant Proc* 2004 May;36(4):1191-1193.
- (56) Stiegler P, Stadlbauer V, Hackl F, Schaffellner S, Iberer F, Greilberger J, et al. Ductal injection of University of Wisconsin solution prior to pancreas preservation prevents oxidative cell damage. *Transplant Proc* 2009 Nov;41(9):3628-3631.
- (57) Tanioka Y, Tanaka T, Gotoh T, Kakinoki K, Li S, Yoshikawa T, et al. Augmentation of tissue ATP level during digestion using preoxygenated perfluorocarbon results in high islet yield-new strategy for islet isolation. *Transplant Proc* 2005 Jan-Feb;37(1):220-222.
- (58) Domanski L, Sulikowski T, Safranow K, Pawlik A, Olszewska M, Chlubek D, et al. Effect of trimetazidine on the nucleotide profile in rat kidney with ischemia-reperfusion injury. *Eur J Pharm Sci* 2006 Mar;27(4):320-327.
- (59) Luque P, Alvarez-Vijande R, Alcaraz A, Aguilar A, Alcoberro J, Rodriguez A, et al. Experimental study of the cellular energy charge in pig kidney transplants from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 1999 Sep;31(6):2352-2353.
- (60) van den Eijnden MM, Leuvenink HG, Ottens PJ, 't Hart NA, van Oeveren W, Morariu AM, et al. Effect of brain death and non-heart-beating kidney donation on renal function and injury: an assessment in the isolated perfused rat kidney. *Exp Clin Transplant* 2003 Dec;1(2):85-95.
- (61) Wu HH, Hsiao TY, Chien CT, Lai MK. Ischemic conditioning by short periods of reperfusion attenuates renal ischemia/reperfusion induced apoptosis and autophagy in the rat. *J Biomed Sci* 2009 Feb 11;16:19.
- (62) Koch A, Radovits T, Loganathan S, Sack FU, Karck M, Szabo GB. Myocardial protection with the use of L-arginine and N-alpha-acetyl-histidine. *Transplant Proc* 2009 Jul-Aug;41(6):2592-2594.
- (63) Hua D, Zhuang X, Ye J, Wilson D, Chiang B, Chien S. Using fructose-1,6-diphosphate during hypothermic rabbit-heart preservation: a high-energy phosphate study. *J Heart Lung Transplant* 2003 May;22(5):574-582.
- (64) Cargnoni A, Ceconi C, Bernocchi P, Parrinello G, Benigno M, Boraso A, et al. Changes in oxidative stress and cellular redox potential during myocardial storage for transplantation: experimental studies. *J Heart Lung Transplant* 1999 May;18(5):478-487.
- (65) Koch A, Loganathan S, Radovits T, Sack FU, Karck M, Szabo GB. Deferoxamine, the newly developed iron chelator LK-614 and N-alpha-acetyl-histidine in myocardial protection. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2010 Feb;10(2):181-184.
- (66) Lin H, Mo A, Zhang F, Huang A, Wen Z, Ling S, et al. Donor heart preservation in an empty beating state under mild hypothermia. *Ann Thorac Surg* 2010 May;89(5):1518-1523.

- (67) Compagnon P, Wang H, Lindell SL, Ametani MS, Mangino MJ, D'Alessandro AM, et al. Brain death does not affect hepatic allograft function and survival after orthotopic transplantation in a canine model. *Transplantation* 2002 Apr 27;73(8):1218-1227.
- (68) Hickman R, Rose-Innes C, Tyler M, Bracher M, Lotz Z, Fourie J. Energy charge as an indication of liver viability. A comparison of changes in livers that remained intact with those subjected to autografting. *Transplantation* 1992 Mar;53(3):540-545.
- (69) Manaka D, Okamoto R, Yokoyama T, Yamamoto Y, Washida M, Ino K, et al. Maintenance of liver graft viability in the state of brain death. Synergistic effects of vasopressin and epinephrine on hepatic energy metabolism in brain-dead dogs. *Transplantation* 1992 Mar;53(3):545-550.
- (70) Tanaka A, Noguchi M, Morimoto T, Taki Y, Shimahara Y, Nakatani T, et al. Influence of hemodilution on hepatic energy metabolism in rat. *Eur Surg Res* 1987;19(4):200-206.
- (71) Morita A, Kuroda Y, Saitoh Y. Evaluation of the viability and energy metabolism of ischemically damaged canine pancreas during preservation by the two-layer (University of Wisconsin solution/perfluorochemical) cold storage method. *Kobe J Med Sci* 1992 Jun;38(3):205-216.
- (72) van der Hoeven JA, Molema G, Ter Horst GJ, Freund RL, Wiersema J, van Schilf-gaarde R, et al. Relationship between duration of brain death and hemodynamic (in)stability on progressive dysfunction and increased immunologic activation of donor kidneys. *Kidney Int* 2003 Nov;64(5):1874-1882.
- (73) Hoeger S, Petrov K, Reisenbuechler A, Fontana J, Selhorst J, Hanusch C, et al. The additional detrimental effects of cold preservation on transplantation-associated injury in kidneys from living and brain-dead donor rats. *Transplantation* 2009 Jan 15;87(1):52-58.
- (74) Schmitz V, Klawitter J, Bendrick-Peart J, Haschke M, Beckey VE, Laudi S, et al. Impact of organ preservation using HTK for graft flush and subsequent storage in UW in rat kidney transplantation. *Eur Surg Res* 2006;38(4):388-398.
- (75) Wicomb WN, Cooper DK, Lanza RP, Novitzky D, Isaacs S. The effects of brain death and 24 hours' storage by hypothermic perfusion on donor heart function in the pig. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986 Jun;91(6):896-909.
- (76) Galinanes M, Hearse DJ. Brain death-induced impairment of cardiac contractile performance can be reversed by explantation and may not preclude the use of hearts for transplantation. *Circ Res* 1992 Nov;71(5):1213-1219.
- (77) Szabo G, Sebening C, Hackert T, Hagl C, Tochtermann U, Vahl CF, et al. Effects of brain death on myocardial function and ischemic tolerance of potential donor hearts. *J Heart Lung Transplant* 1998 Sep;17(9):921-930.
- (78) Biagioli B, Scolletta S, Marchetti L, Tabucchi A, Carlucci F. Relationships between hemodynamic parameters and myocardial energy and antioxidant status in heart transplantation. *Biomed Pharmacother* 2003 May-Jun;57(3-4):156-162.

- (79) Kharbanda RK. Cardiac conditioning: a review of evolving strategies to reduce ischaemia-reperfusion injury. *Heart* 2010 Aug;96(15):1179-1186.
- (80) Macedo FI, Miranda LE. Role of ischemic preconditioning in liver transplant: a review of literature. *Exp Clin Transplant* 2010 Mar;8(1):1-3.
- (81) Barklin A. Systemic inflammation in the brain-dead organ donor. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009 Apr;53(4):425-435.
- (82) Tapuria N, Kumar Y, Habib MM, Abu Amara M, Seifalian AM, Davidson BR. Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia reperfusion injury--a review. *J Surg Res* 2008 Dec;150(2):304-330.
- (83) Kunzendorf U, Hohenstein B, Oberbarnscheid M, Muller E, Renders L, Schott GE, et al. Duration of donor brain death and its influence on kidney graft function. *Am J Transplant* 2002 Mar;2(3):292-294.
- (84) Nijboer WN, Moers C, Leuvenink HG, Ploeg RJ. How important is the duration of the brain death period for the outcome in kidney transplantation? *Transpl Int* 2011 Jan;24(1):14-20.
- (85) Biagioli B, Scolletta S, Marchetti L, Tabucchi A, Carlucci F. Relationships between hemodynamic parameters and myocardial energy and antioxidant status in heart transplantation. *Biomed Pharmacother* 2003 May-Jun;57(3-4):156-162.
- (86) Kallerhoff M, Blech M, Isemer FE, Kehrer G, Kleinert H, Langheinrich M, et al. Metabolic, energetic and structural changes in protected and unprotected kidneys at temperatures of 1 degree C and 25 degrees C. *Urol Res* 1988;16(1):57-62.
- (87) Hene RJ, van der Grond J, Boer WH, Mali WP, Koomans HA. Pre-transplantation assessment of renal viability with 31P magnetic resonance spectroscopy. *Kidney Int* 1994 Dec;46(6):1694-1699.
- (88) Mazzaferro V, Llovet JM, Miceli R, Bhoori S, Schiavo M, Mariani L, et al. Predicting survival after liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma beyond the Milan criteria: a retrospective, exploratory analysis. *Lancet Oncol* 2009 Jan;10(1):35-43.