

Chirurgische Klinik und Poliklinik  
der Technischen Universität München  
Klinikum rechts der Isar  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. R. Siewert)

## **Zytokinmonitoring von Spendern und gespendeten Nieren bei Tospendern im Vergleich zu Lebendspendern**

Thomas Zerkaulen

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ. - Prof. Dr. D. Neumeier  
Prüfer der Dissertation: 1. Priv. - Doz. Dr. M. J. Stangl  
2. Univ. - Prof. Dr. J. R. Siewert

Die Dissertation wurde am 11.09.2002 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 15.10.2003 angenommen.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b><u>EINLEITUNG</u></b>	<b>5</b>
<b>1.1</b>	<b>ZYTOKINE</b>	<b>7</b>
1.1.1	TNF-ALPHA	8
1.1.2	IL6	12
1.1.3	IL8	15
1.1.4	IL 2 R	17
1.1.5	ZUSAMMENFASSUNG:	18
<b>2</b>	<b><u>AUFGABENSTELLUNG</u></b>	<b>19</b>
<b>2.1</b>	<b>SIND DIE ZYTOKINWERTE DES TODSPENDERS ABHÄNGIG VON:</b>	<b>20</b>
<b>2.2</b>	<b>UNTERSCHIEDEN SICH DIE ZYTOKINWERTE VON LEBENDSPENDERN UND TODSPENDERN?</b>	<b>20</b>
2.2.1	IST EIN UNTERSCHIED ZWISCHEN PRÄOPERATIVEN UND POSTOPERATIVEN ZYTOKINWERTEN DER SPENDER ZU ERKENNEN?	20
<b>2.3</b>	<b>KANN EINE BACKTABLE PERFUSION DER NIERE DIE ZYTOKINWERTE IM EFLUAT SENKEN?</b>	<b>20</b>
2.3.1	WIRD DURCH DIE BACKTABLE PERFUSION DER ZYTOKINLOAD VON TOD - NIEREN AUF EIN ÄHNLICH NIEDRIGES NIVEAU GESENKT WIE BEI EINER LEBENDSPENDE?	20
<b>2.4</b>	<b>HAT DIE BACKTABLE PERFUSION AUSWIRKUNGEN AUF DIE TRANSPLANTATFUNKTION?</b>	<b>20</b>
<b>2.5</b>	<b>SPIELT DIE DAUER DER KALTISCHÄMIEZEIT FÜR DIE HÖHE DER ZYTOKINWERTE IM PERFUSAT EINE ROLLE?</b>	<b>20</b>
<b>2.6</b>	<b>SPIELT DIE HÖHE DER POSTOPERATIVEN ZYTOKINWERTE EINE ROLLE FÜR DIE HÖHE DER ZYTOKINWERTE IM PERFUSAT?</b>	<b>20</b>

### **3 MATERIAL UND METHODE** **21**

---

<b>3.1 MATERIAL</b>	<b>21</b>
3.1.1 SPENDER	21
3.1.2 TODESURSACHE DER TODSPENDER	22
3.1.3 LIEGEDAUER UND OP-DAUER	22
3.1.4 EMPFÄNGER	22
3.1.5 PERFUSIONSLÖSUNGEN UND ZEITEN	23
3.1.6 SERUMPROBEN	25
3.1.7 „BACK-TABLE PROBEN“	25
<b>3.2 METHODE DER AUSWERTUNG</b>	<b>28</b>
3.2.1 ENZYMIMMUNASSAY	28
3.2.2 STANDARDWERTE	29
3.2.3 KONTROLLGRUPPEN	30
3.2.4 STATISTISCHE AUSWERTUNG	32

### **4 ERGEBNISSE** **33**

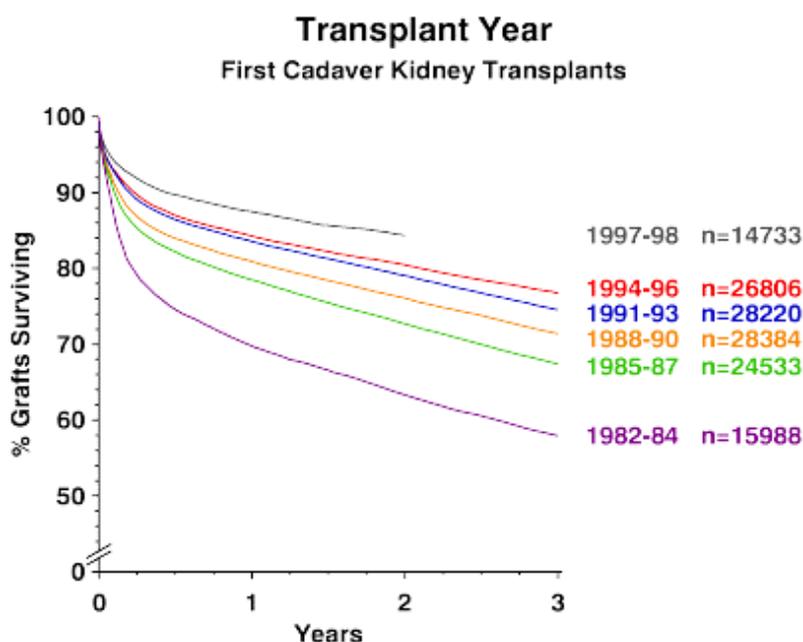
---

<b>4.1 SIND DIE ZYTOKINWERTE DES SPENDERS ABHÄNGIG VON DER OP - DAUER, DER PRÄOPERATIVEN LIEGEZEIT, DER TODESURSACHE ODER DEM UMFANG DER EXPLANTATION?</b>	<b>33</b>
<b>4.2 UNTERSCHIEDEN SICH DIE ZYTOKINWERTE VON LEBENDSPENDER UND TODSPENDER?</b>	<b>39</b>
<b>4.3 KANN EINE BACKTABLE PERFUSION DIE INTRAVASALEN ZYTOKINWERTE EINER EXPLANTIERTEN NIERE SENKEN?</b>	<b>43</b>
<b>4.4 HAT DIE BACKTABLE-PERFUSION AUSWIRKUNGEN AUF DIE TRANSPLANTATFUNKTION?</b>	<b>51</b>
<b>4.5 STEHEN DIE KALTISCHÄMIEZEITEN DER NIEREN IM ZUSAMMENHANG MIT DEN GEMESSENEN ZYTOKINWERTEN DER BACKTABLE-PROBEN I ?</b>	<b>53</b>
<b>4.6 STEHEN DIE SPENDERZYTOKINWERTE IM ZUSAMMENHANG MIT DEN GEMESSENEN ZYTOKINWERTEN DER BACKTABLE-PROBEN I ?</b>	<b>54</b>

<b>5</b>	<b><u>DISKUSSION</u></b>	<b>56</b>
<b>5.1</b>	<b>METHODIK</b>	<b>57</b>
<b>5.2</b>	<b>ZYTOKINE</b>	<b>58</b>
<b>5.3</b>	<b>ZYTOKINWERTE DER ORGANSPENDER</b>	<b>59</b>
<b>5.4</b>	<b>ZYTOKINWERTE DER PERFUSATE</b>	<b>62</b>
<b>5.5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>65</b>
<b>6</b>	<b><u>SCHLUSSFOLGERUNG</u></b>	<b>67</b>
<b>7</b>	<b><u>LEBENS LAUF</u></b>	<b>69</b>
<b>8</b>	<b><u>ANHANG</u></b>	<b>70</b>
<b>8.1</b>	<b>FRAGE 1</b>	<b>70</b>
<b>8.2</b>	<b>FRAGE 2</b>	<b>72</b>
<b>8.3</b>	<b>FRAGE 3</b>	<b>74</b>
<b>8.4</b>	<b>FRAGE 4</b>	<b>75</b>
<b>8.5</b>	<b>FRAGE 5</b>	<b>76</b>
<b>8.6</b>	<b>FRAGE 6</b>	<b>76</b>
<b>9</b>	<b><u>LITERATURVERZEICHNISSE</u></b>	<b>78</b>

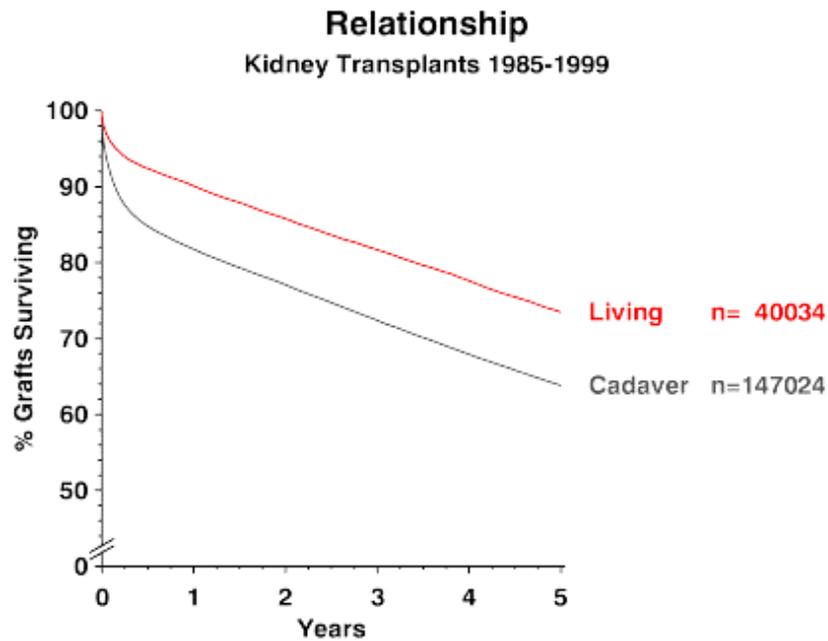
## 1 Einleitung

In den letzten Jahren hat sich die Transplantationschirurgie in der westlichen Welt zunehmend etabliert. Der Umgang mit neuen Operationsverfahren und den zur Verfügung stehenden immunsuppressiven Medikamenten hat die Erfolgsaussichten für die Empfänger von Spenderorganen erheblich erhöht. Wie aus der folgenden Graphik ersichtlich ist das Überleben in den letzten Jahren stetig gestiegen.



Dies trifft im besonderen Maße für die Nierentransplantation zu. Hier konnten im Vergleich mit anderen Organen die überzeugendsten Ergebnisse erzielt werden. Die Anzahl der zur Verfügung stehenden Spenderorgane kann aber nicht die enorm angestiegene Zahl der potentiellen Empfänger aufwiegen. Daher ist die Nierenspende eines nahestehenden Menschen oft die realistischere Lösung.

Im Vergleich von Todspenden und Lebendspenden sind hinsichtlich der Langzeitüberleber und Langzeitfunktion des Organs eindeutige Unterschiede festzustellen. Diese Unterschiede verdeutlichen sich eindrucksvoll in den statistischen Langzeiterhebungen nach Opitz et al.



Demnach ist die Funktion einer lebend gespendeten Niere erheblich besser als die eines hirntoten Spenders. Da oft nur der isolierte Hirntod das einzige Unterscheidungs-Merkmal zwischen Lebendspender und Todspender ist, also eine weitere Polytraumatisierung anderer Organe oder Bereiche bei einem Hirntoten nicht festzustellen ist, stellte sich die Frage in welchen Veränderungen sich die Unterschiede niederschlagen könnten.

Daher wurde in der vorliegenden Arbeit versucht Unterschiede zwischen Todspenden und Lebendspenden im Hinblick auf die Ausprägung verschiedener Zytokine zu erarbeiten.

## 1.1 Zytokine

Gewebereaktionen, Immunität und Abstoßungsreaktionen sind Folgen eines aktivierten Immunsystems, die u.a. durch die Produktion und Freisetzung von Zytokinen reguliert werden. Zytokine spielen somit eine essentielle Rolle im Netzwerk der interzellulären Kommunikation und stellen eine komplexe Informationsvernetzung der einzelnen Zellen und Gewebe sicher. In diesem Zusammenhang kann man von einer netzwerkartigen Zytokin-Kaskade sprechen (26).

Zytokine sind Polypeptide mit einem Molekulargewicht zwischen 7 und 60 kD. Sie haben autokrine, parakrine oder/und endokrine Wirkmechanismen. Hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität sind Zytokine pleiotrop (ein Zytokin hat mehrere verschiedene Wirkungen) und redundant (verschiedenen Zytokine haben gleiche Wirkungen).

Eine Einteilung der Zytokine kann in folgende Untergruppen erfolgen:

<b>Zytokingruppen:</b>	<b>Vertreter, u.a.:</b>
Interleukine (IL)	IL-1 bis IL-18, IL-1RA
Interferone (IFN)	IFN - Alpha, beta, gamma
Kolonie - stimulierende Faktoren (CSF)	M-F, GM-CSF, G-CSF, SCF Erythropoetin Thrombopoetin
Tumornekrosefaktoren (TNF)	TNF - Alpha und Beta
Chemotaktische Faktoren	z.B.: MIP, MCP
Lösliche Rezeptoren	z.B.: CD23, IL-2R, TNF-R

Immunologisch relevante Zytokine werden von den verschiedenen Zellarten gebildet. Lymphozyten (Lymphokine), Monozyten/Makrophagen (Monokine), aber auch nicht immunologische Zellen (zum Beispiel Endothelzellen und Keratinozyten) sezernieren Zytokine.

Die meisten Zytokine, vor allem diejenigen, die von T-Lymphozyten sezerniert werden, fungieren hauptsächlich parakrin. Normalerweise erreichen sie daher weder

die Blutzirkulation noch haben sie darin Bestand. Sie dienen als lokale Mediatoren, die vorzugsweise als Reaktion auf eine antigenpräsentierende Zelle ausgeschüttet werden. Die Zytokinsynthese ist also überwiegend temporär und unterliegt zum Teil einer antiregulatorischen Komponente.

Hingegen sind nicht-lymphozytäre Zellen in der Lage, auch unspezifisch stimuliert zu werden, beispielsweise durch LPS, virale Fragmente oder andere Zytokine.

Es gibt Mechanismen sowohl um Reaktionen zu verstärken, beispielsweise durch Zytokinsynergien und positive Feedbackregulationen, als auch um eine Limitierung zu bewirken, so zum Beispiel durch antigenabhängige Zytokinsynthese und negatives Feedback.

Durch diese vielfältigen Wirkungsbeziehungen nimmt der Stellenwert von Zytokinen in der Medizin stetig zu. Zum Beispiel ist die Behandlung mit Zytokinen längst therapeutisch relevant (36) und auch die Bestimmung der Zytokinmuster zu diagnostischen Zwecken etabliert sich im klinischen Alltag immer stärker.

Im Folgenden sollen die im Rahmen dieser Dissertation betrachteten Zytokine näher erläutert werden.

### 1.1.1 TNF-alpha

Weitere alternative Bezeichnungen, u.a.:

*Cachectin*

*CF* (cytotoxic factor)

*CTX* (cytotoxin)

*DIF* (differentiation inducing factor)

*EP* (endogenous pyrogens)

*Hemorrhagic factor*

*Macrophage-derived cytotoxic factor*

*J774-derived cytotoxic factor*

*MCF* (macrophage cytotoxic factor)

*MCT* (macrophage cytotoxin)

*PCF* (peritoneal cytotoxic factor)

*RCF* (released cytotoxic factor)

Die beiden bekannten Tumornekrosefaktoren Alpha und Beta sind zwei nahe verwandte Proteine. Die Homologie ihrer Aminosäuresequenz liegt bei 34 %.

TNF-Alpha hat ein Molekulargewicht von 17 kD (157 Aminosäuren) und liegt in der biologisch aktiven Form als nicht-glykosyliertes Trimer oder Dimer vor.

TNF-Alpha wird aus einem Vorläufermolekül mit einer Länge von 233 Aminosäuren abgespalten. Es wird ein TNF - Alpha Converting Enzym beschrieben, das diese Umwandlung katalysiert.

Eine weitere transmembranöse TNF Form mit einem Molekulargewicht von 26 kD wird beschrieben. Sie kann eine Zytolyse nach erfolgtem Zell-zu-Zell Kontakt verursachen(33). Die Mediatoren binden an der Zielzelle an ähnlich strukturierte Rezeptoren.

Es werden zwei Rezeptoren unterschieden: TNF-Rezeptor I (p55) und TNF-Rezeptor II (p75).

p55 wird besonders auf Zellen exprimiert, die einer zytotoxischen Aktivität des TNF-Alpha unterliegen. p75 ist dagegen auf vielen andern Zellen exprimiert.

Besonders Zellen der myeloischen Reihe besitzen viele p75-Rezeptoren, wie zum Beispiel aktivierte T- und B-Zellen.

Zum Teil können sich manche der zellmembrangebundenen Rezeptoren von der Zelloberfläche lösen. Diese freien Rezeptoren sind ebenfalls in der Lage TNF-Alpha zu binden und treten somit in Konkurrenz zu den zellgebundenen membranständigen Rezeptoren.

Wahrscheinlich tragen diese freien Rezeptoren zur Regulation des biologisch aktiven TNF-Alpha Haushaltes bei.

Der membranständige Rezeptorkomplex kann auf der Oberfläche von allen somatischen Zellen, außer auf der Oberfläche von Erythrozyten, nachgewiesen werden. Die Rezeptorendichte liegt zwischen 500 - 10000 pro Zelle.

Es werden die verschiedensten Zellen und Zell - Linien als Produktionsorte beschrieben, zum Beispiel Makrophagen, Monozyten, CD4+-T Zellen, NK-Zellen, glatte Muskelzellen, polymorphnukleäre Neutrophile, Astrozyten und Tumorzell-Linien (50). CD8-T-Zellen können dagegen nur wenig bis überhaupt kein TNF-Alpha produzieren.

Als Produktionsstimuli werden LPS, Zytokine wie IFN, IL-2, GM-CSF und Substanz P, und durch Makrophagen aufgenommene Fremdmaterialien (Bakterien, Viren, Protozoen) beschrieben (5).

Eingeschränkt oder verhindert werden kann die Produktion von TNF-Alpha durch Interleukin-6, TGF-Beta, Vitamin D3, Prostaglandin E2, Dexamethason, Cyclosporin A und Antagonisten gegen PAF (platelet activating factor).

Da TNF-Alpha auf viele verschiedene Zelltypen wirkt, zeigt es auch ein weites Wirkspektrum. Es hat zytolytische und zytostatische Effekte auf Tumorzellen und wirkt chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten.

Es stellt einen Wachstumsfaktor für Fibroblasten dar und stimuliert die Synthese von Kollagenasen, Prostaglandin E2 und Interleukin-1.

Eine Verstärkung der Proliferation von T-Zellen in der Abwesenheit von Interleukin -2 kann durch TNF ausgelöst werden. Einige Subpopulationen von T-Zellen sind dagegen nur in der Lage zusammen mit Interleukin-2 und TNF-Alpha zu proliferieren. In Anwesenheit von Interleukin-2 kann TNF-Alpha auch die Proliferation und Differenzierung von B-Zellen veranlassen. Makrophagen werden durch TNF-Alpha in ihrer Aktivität erheblich gesteigert und zur Produktion von Superoxid Dismutase angeregt.

Auch eine Modulation von weiteren Schlüsselproteinen, wie zum Beispiel Interleukin-1 und -6, kann beobachtet werden (7).

In Zusammenhang mit Interleukin-1 ist TNF-Alpha in vivo an vielen Regulationen des Endothels beteiligt.

Es inhibiert antikoagulatorische Mechanismen und fördert thrombotische Prozesse. Somit spielt TNF-alpha eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Vaskulitiden, DIC (dissimilierte intravasale Gerinnung) und anderen pathologischen Gefäßveränderungen.

Auch bei der Adhäsion von Leukozyten an Endothelien spielen die verschiedenen Rezeptoren eine Rolle. Eine Aktivierung des p55 - Rezeptors induziert zelluläre Adhäsionsmoleküle wie zum Beispiel E-Selectin, ICAM-1 und CD44. Hingegen induziert eine Aktivierung von beiden Rezeptoren, p55 und p75, die Expression von Alpha-2 integrin (46).

Die unterschiedliche Wirkungsweise von TNF-Alpha auf verschiedene Zellen, zytotoxische und stimulierende Effekte, wird wahrscheinlich durch die variable Expression der unterschiedlichen Rezeptoren und verschiedener Rezeptor-assoziiierter Proteine gesteuert. Aufgrund seiner zytostatischen und zytolytischen Eigenschaften wird TNF-Alpha ein hohes Potential in der Therapie von Neoplasien eingeräumt (6).

In der Transplantationsmedizin spielt TNF-Alpha eine Rolle bei der Pathogenese des ischämischen Reperfusionsschaden. TNF-Alpha führt zu einer glomerulären Fibrineinlagerung, verstärkt durch die Chemotaxis die zelluläre Invasion und begünstigt eine Vasokonstriktion der Gefäße. Die zytotoxischen Eigenschaften von TNF-Alpha können auch zu einer direkten rezeptorvermittelten Apoptose führen. Alle diese Faktoren führen zu einer Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate, und verschlechtern somit die Transplantatfunktion. Durch die Möglichkeit, monoklonale Antikörper gegen TNF-Alpha zu verwenden, eröffnen sich vielseitige therapeutische Möglichkeiten. So werden bereits Erfolge bei der Therapie des Septischen Schocks, des Morbus Crohn und weiteren entzündlichen und immunologischen Prozessen berichtet (43). In der Therapie von Transplantatabstoßungen eröffnen sich durch die Kenntnis dieser Pathomechanismen und die Anwendung von Anti-TNF Strategien ganz neue Behandlungskonzepte (10).

### 1.1.2 IL6

Weitere alternative Bezeichnungen, u.a.:

26 kD Protein

*BCDF* (B-cell differentiation factor)

*BCSF* (-cell stimulating factor)

*BSF-2* (B-cell stimulating factor-2)

*CDF* (cholin acetyltransferase development factor)

*CSF-309* (hematopoietic colony stimulating factor)

*DIF* (differentiation inducing factor)

*FDGI* (fibroblast-derived growth factor)

*HGF* (hybridoma growth factor)

*HPGF* (hybridoma/plasmacytoma growth factor)

*IFN-beta-2*

*ILHPI* (interleukin-hemopoietin-1)

*MGI-2A* (macrophage-granulocyte inducer-2A)

*NKAF* (natural killer cell activating factor)

*TAF* (T-cell activating factor)

*TPO* (thrombopoietin)

*TSF* (thymocyte stimulating factor)

*WI-26-VA4 factor*

Interleukin-6 wird aus einem Proprotein gebildet, das eine Länge von 212 Aminosäuren hat. Aus diesem Polypeptid wird das biologisch aktive Protein mit einer Aminosäurenlänge von 184 abgespalten.

Aufgrund unterschiedlicher Glykosylierung und Phosphorylierung an Aminosäureposition 73 und 172 kann das Molekulargewicht zwischen 21,5 und 28 kD betragen.

Es werden zwei Rezeptorformen für Interleukin-6 unterschieden. Beide stammen von einer gemeinsamen Urform ab und werden durch unterschiedliche posttranslationale Modifikationen gebildet. Beide Rezeptoren besitzen unterschiedliche Affinitäten zu Interleukin-6 (37). Auch eine lösliche Form des Rezeptors konnte nachgewiesen werden. Diese lösliche Rezeptorform dient

möglicherweise der Regulation des Interleukin-6 Systems und dem Transport von Interleukin-6. In ähnlicher Weise sind solche löslichen Rezeptoren auch bei TNF-Alpha (s.o.), Interleukin-1, -2, -4, -7 und IFN-Gamma bekannt (15).

Expresiierte Interleukin-6 Rezeptoren findet man auf aktivierten T-Zellen, mitotisch aktiven B-Zellen und peripheren Monozyten. Auf ruhenden B-Zellen findet man sie im Gegensatz zu ruhenden T-Zellen nicht.

Auch hier sind viele verschiedene Zellarten in der Lage Interleukin-6 zu produzieren, zum Beispiel Monozyten/Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen, Mastzellen und auch viele Tumorzell-Linien (36/24/15). T-Zellen ist es jedoch nur in der Gegenwart von Monozyten möglich Interleukin-6 zu sezernieren.

Das Produktionsmaximum der Monozyten wird schon ca. 5 Stunden nach Stimulation erreicht, wohingegen T-Zellen ein bis zwei Tage benötigen um ihre maximale Ausschüttung zu erreichen. Es scheint also nicht nur das Interleukin-6 eine Rolle zu spielen, sondern auch die unterschiedlichen Produktionszellen und -zeiten.

In Gegenwart von Interleukin-2 kann IL6 die Differenzierung von T-Zellen zu zytotoxischen T-Zellen steuern und die Proliferation von Thymozyten induzieren. Nach Stimulation mit Interleukin-4 ist ein Stimulus mit Interleukin-6 notwendig, um die Differenzierung von B-Zellen zu Ig-produzierenden Plasmazellen zu veranlassen (22). Zusammen mit Interleukin-3 kann Interleukin-6 hämatopoetische Vorläuferzellen stimulieren (3). Ferner ist Interleukin-6 ein hochaktiver Wachstumsstimulus für Myelozyten (weniger als 10pg/ml).

Neben den oben aufgeführten Funktionen besitzt Interleukin-6 noch weitere Wirkungen auf den Körper.

Es kann eine ACTH Freisetzung aus dem Hypophysenvorderlappen bewirken und über eine Beeinflussung des Hormonhaushaltes katabol und temperatursteigernd wirken (23/51). In der Leber wirkt Interleukin - 6 auf die Hepatozyten und fördert so die Produktion von Akut-Phase-Proteinen, wie zum Beispiel CRP, Alpha-1-Antitrypsin und Komplementfaktoren (19).

Aus dieser Vielfalt der Funktionen und Wirkungen ergibt sich eine Reihe von diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten, so zum Beispiel der Diagnose von Abstoßung nach Transplantationen und der Früherkennung von Sepsen, besonders im pädiatrischen Bereich (49/9). Die Möglichkeit der früheren Diagnose sowohl von drohenden septischen Zuständen als auch von akuten Transplantatabstoßungen ist ein wichtiger Fortschritt.

In der Transplantationsmedizin eröffnet sich damit die Möglichkeit schon frühzeitig eine Schädigung des Organs durch die Immunreaktion des Empfängers zu stoppen. Bei Patienten mit einer mesangioproliferativen Glomerulonephritis konnten erhöhte Interleukin-6 Werte im Urin nachgewiesen werden, was wiederum einen früheren Therapiebeginn bedeuten kann (25).

Im Bereich der Pädiatrie erreicht man durch den zeitlichen Diagnosevorteil die Möglichkeit einer objektiveren und schnelleren Diagnose, die ja gerade bei Kindern häufig nicht leicht zu stellen ist.

### 1.1.3 IL8

Weitere alternative Bezeichnungen, u.a.:

*3-10C*

*AIF* (HL-60-derived apoptosis inducing factor)

*ANAP* (anionic neutrophil-activating peptide)

*Chemotaxin*

*EDNAP* (endothelial-derived neutrophil-activating peptide)

*FDNAP* (fibroblast-derived neutrophil-activating peptide)

*GCF* (granulocyte chemotactic factor)

*LAI* (leukocyte adhesion inhibitor)

*LCF* (lymphocyte chemotactic factor)

*LIF* (leukocyte inhibitory factor)

*LUCT* (lung carcinoma-derived chemotaxin)

*MOC* (monocyte-derived chemotaxin)

*NAF* (neutrophil activating factor)

*PLF* (psoriatic leukotactic factor)

*TCF* (T-cell chemotactic factor)

*TSG-1* (tumor necrosis factor-stimulated gene sequences)

Interleukin-8 ist ein nicht-glykosyliertes Protein mit einem Molekulargewicht von 8 kD (72 Aminosäuren). Das aktive Interleukin - 8 Protein wird aus einem Proprotein (99 Aminosäuren) abgespalten. In vivo bindet Interleukin-8 stark an Erythrozyten und unterliegt somit einem Regelmechanismus, da es in gebundener Form nicht mehr zur Reaktion zur Verfügung steht.

Der Interleukin-8 Rezeptor (CD128) ist ein dimeres Glykoprotein mit einer 59 kD und einer 67 kD Subeinheit. Es sind zwei unterschiedliche Rezeptoren bekannt, von denen Typ I ausschließlich Interleukin-8 und Typ II auch weitere Proteine binden kann (u.a.: Melanoma growth stimulatory factor, Macrophage inflammatory protein) (30). Sie werden von vielen verschiedenen Zellen expremiert.

Die Rezeptorendichte ist unterschiedlich. Sie beträgt bei neutrophilen Granulozyten 20000/Zell und bei T-Zellen 300/Zelle.

Eines seiner wichtigsten Funktionen ist die Chemotaxis und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten (52/4).

Dies konnte durch die signifikante Hemmung neutrophiler Granulozyten durch Anti-IL8 Antikörper in vitro gezeigt werden (27). Daher kommt Interleukin-8 eine wichtige Rolle im proinflammatorischen Stadium zu. Es wird auch beschrieben, dass Interleukin-8 die Adhäsion von Leukozyten an Endothelien verhindern kann, und somit einen Schutz gegen die inflammatorische Aktivierung von Endothelien bildet (18).

Interleukin - 8 ist Mitglied in der Familie der 8-10 kD großen Chemokine. Innerhalb dieser Gruppe der Chemokine bildet es mit der „melanoma growth stimulating activity“ (MGSA) und dem „platelet factor 4“ (PF4) die Subfamilie der CXC-Chemokine. Alle diese Chemokine besitzen eine 20 bis 50%ige Aminosäurehomologie.

Vielen Zellen (zum Beispiel Endothelzellen (39), Monozyten, Epithelzellen, Hepatozyten, Fibroblasten und Chondrozyten) können Interleukin-8 bilden. Die Freisetzung von Interleukin-8 aus diesen Zellen kann unter anderem durch LPS, IL 1, TNF und Viren veranlasst werden. Gewebsmakrophagen und T-Zellen sind dagegen nicht in der Lage Interleukin-8 zu produzieren.

In den meisten Zelltypen unterliegt aber die Freisetzung von Interleukin-8 einer strengen Stimulierung durch TNF - Alpha und Interleukin-1 (1).

Die Synthese der mRNA für Interleukin-8 lässt sich durch die in der Transplantationsmedizin eingesetzten Immunsuppressiva Cyclosporin und FK 506 in vitro nicht hemmen (11). Glukokortikoide hemmen die Synthese von Interleukin-8 hingegen. Auch Interleukin-4, TG -Beta und Vitamin D3 bewirken eine Hemmung der Synthese.

Klinisch relevante Bezüge werden derzeit noch wenige beschrieben. Eine gewisse Rolle als Entzündungsparameter wird Interleukin-8 sowie Interleukin-6 zugesprochen. Bei Psoriasis und chronischen Polyarthritiden wurde Interleukin-8 im Serum bzw. in der Synovialflüssigkeit gefunden (32/38).

#### 1.1.4 IL 2 R

Der eigentliche Rezeptor besteht aus drei membranständigen Subfragmenten. Man kann eine Alpha Kette (Molekulargewicht 55 kD/251 Aminosäuren), eine Beta Kette (Molekulargewicht 75 kD/525 Aminosäuren) und eine Gamma Kette (Molekulargewicht 64/58/69 kD je nach Zellart) von einander unterscheiden (20/13).

Die Beta Kette stellt den in der Membran verankerten Teil des Rezeptors dar. Durch unterschiedliche Kombinationen der drei Ketten können sich unterschiedliche Interleukin-2-Rezeptoren ausbilden, die sich in ihrer Affinität zu Interleukin-2 unterscheiden (42).

Eine Komponente der Alpha Kette, das 42kD-Fragment, wird kontinuierlich freigesetzt und zirkuliert in löslicher Form (sIL 2 R) im Serum. Es steht daher zur Messung im Serum zur Verfügung und erlaubt Rückschlüsse auf das Aktivitätsniveau des Interleukin-2-Rezeptorsystems. Die Erhöhung der Serumkonzentration wird übereinstimmend als Ausdruck der Immunisation bei Transplantatempfängern gewertet (41/36/40).

Nach erfolgter T-Zell-Aktivierung gehören die verstärkte Synthese von Interleukin-2 und Oberflächenexpression des IL2-Rezeptors zu den ersten Ereignissen der Immunantwort. Die Bindung von Interleukin-2 an seinen Rezeptor stellt eine Schlüsselposition in der Regulation der Immunantwort dar.

Aktivierte T-Zellen sind neben aktivierten B-Zellen und ruhenden mononukleären Leukozyten, die Interleukin-2-Rezeptoren nur sehr gering ausbilden, die einzigen Zellen, die eine hohe Anzahl von Rezeptoren exprimieren (44). Es werden weitere T-Zellen aktiviert und die Generierung von Helfer-, Suppressor- und Zytotoxischen-T-Zellen veranlasst (14). Auch weitere Schlüsselzytokine unterliegen dem Interleukin-2 Stimulus. TNF-Alpha und -Beta, Interleukin-1 und IFN-Gamma sind solche Zytokine, die durch das Interleukin-2-System verstärkt produziert werden können.

Da die T-Zell Aktivierung von der Antigenpräsentation abhängt, ist der Prozess der Interleukin-2-Produktion durch die Verfügbarkeit des Antigens bzw. Stimulus limitiert. Verschwindet dieser Reiz im Verlauf der Immunreaktion zunehmend, so nimmt die Dichte der Rezeptoren ab und die Vermehrung des Zellklons kommt zum Stillstand.

B-Zellen werden in Gegenwart von u.a. Interleukin-4 durch den Einfluss von Interleukin-2 zur Proliferation, Differenzierung und Ig-Produktion angeregt (16) und Monozyten aktiviert (29).

Auch in Tierversuchen konnte die zentrale Rolle des Interleukin-2-Rezeptorsystems belegt werden. Es konnte durch die Gabe von monoklonalen Antikörpern gegen den Interleukin-2-Rezeptor die Lebensdauer der Nierentransplantate erheblich verlängert werden (35). In vivo wird die Produktion von Interleukin-2 durch Dexamethason und Cyclosporin A gehemmt.

Therapeutische Eingriffe in das Interleukin-2 System scheinen insbesondere in der Onkologie erfolgversprechend zu sein. Bei der Behandlung von Metastasen, die von einem Nierenzellkarzinom stammen, wurden zum Beispiel Erfolge beschrieben (12).

#### 1.1.5 Zusammenfassung:

In der vorliegenden Arbeit sollten Nierenspender und deren gespendete Nieren hinsichtlich ihrer Zytokinausprägung betrachtet werden. Daher stellte sich die Frage, welche Zytokine sich hierfür eignen.

Mehrere Faktoren wurden zu diesem Zweck berücksichtigt. Die betrachteten Zytokine sollten durch einen standardisierten Test gemessen werden können: sie sollten eine klinische Etablierung aufweisen und natürlich eine zentrale Stellung innerhalb des inflammatorischen Geschehens besitzen. Für die hier verwendeten Zytokine (TNF-Alpha, Interleukin-6, Interleukin-8 und Interleukin-2-Rezeptor) treffen alle diese Faktoren zu. Dadurch, dass sie Einzug in die tägliche Klinikdiagnostik genommen haben, besitzen sie eine klinische Relevanz und sind gleichzeitig mit Standardtests zu erheben. Durch die Standardisierung der Testkits

konnte die Varianz der Testverfahren minimiert werden. TNF-Alpha ist ein Zytokin mit einem breiten Wirkspektrum. Es ist ein wichtiger proinflammatorischer Faktor, der in der Lage ist T- und B-Zellen zu aktivieren, chemotaktisch auf Neutrophile zu wirken und u.a. die Aktivität von Makrophagen erheblich zu steigern. TNF-Alpha spielt durch die Induzierung zellulärer Adhäsionsmoleküle auch im endothelialen Aktivierungsprozess eine Rolle.

Interleukin-6 ist bei der Differenzierung von T-Zellen zu zytotoxischen T-Zellen und bei der Differenzierung von Plasmazellen beteiligt. Auch bei der Induzierung von Akut-Phase-Proteinen, die weitere inflammatorische Prozesse triggern können, ist Interleukin-6 beteiligt. Interleukin-8 weist ähnlich wie TNF chemotaktische Eigenschaften für Neutrophile auf. Weiterhin vermag Interleukin-8 protektiv gegen das Rolling von Leukozyten zu wirken. Der Interleukin-2-Rezeptor wird nach Aktivierung des zellulären Systems vermehrt expremiert und stellt eine Schlüsselposition innerhalb der Regulation dar. Dadurch, dass Interleukin-2 auch auf die eigenen Produktionszellen (aktivierte T- und B-Zellen) wirkt, wird durch diese Autoregulation eine Aktivierung bzw. Selbstlimitierung erreicht.

Somit wird durch die von uns betrachteten Zytokine eine Einschätzung des immunologischen Aktivitätsniveaus von Spender bzw. gependeter Nieren ermöglicht.

## **2 Aufgabenstellung**

Neben der makroskopischen Inspektion der explantierten Niere, klinischen Parametern des Spenders und weiteren methodischen Anhaltspunkten wie zum Beispiel hypotone Kreislaufsituationen des Spenders oder Reanimationsphasen gibt es auch die Möglichkeit, Zytokine des Spenders und der explantierten Niere zu erfassen. Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss von bestimmten Spenderdaten wie die Todesursache, den Umfang der Organentnahme d.h. die Dauer der Explantation/Art der Explantation und das Vorhandensein eines Hirntodes zu untersuchen. Weiterhin interessierte die Möglichkeit der Backtable-Perfusion und die Quantifizierung der im Perfusat zu messenden Zytokine. Dies auch im Hinblick auf eine unterschiedliche Ausprägung der Zytokinwerte zwischen Todspender und Lebendspender.

Im einzelnen wurden dazu folgende Fragestellungen betrachtet:

**2.1 Sind die Zytokinwerte des Todspenders abhängig von:**

- der Explantationsdauer?
- der Todesursache des Spenders?
- der Art der Organspende (Multi/Solo)?
- der Intensivaufenthaltsdauer des Spenders vor der Explantation?

**2.2 Unterscheiden sich die Zytokinwerte von Lebendspendern und Todspendern?**

- 2.2.1 Ist ein Unterschied zwischen präoperativen und postoperativen Zytokinwerten der Spender zu erkennen?

**2.3 Kann eine Backtable Perfusion der Niere die Zytokinwerte im Efluat senken?**

- 2.3.1 Wird durch die Backtable Perfusion der Zytokinload von Tod - Nieren auf ein ähnlich niedriges Niveau gesenkt wie bei einer Lebendspende?

**2.4 Hat die Backtable Perfusion Auswirkungen auf die Transplantatfunktion?**

**2.5 Spielt die Dauer der Kaltischämiezeit für die Höhe der Zytokinwerte im Perfusat eine Rolle?**

**2.6 Spielt die Höhe der postoperativen Zytokinwerte eine Rolle für die Höhe der Zytokinwerte im Perfusat?**

### 3 Material und Methode

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Spender

In die vorliegende Untersuchung wurden 15 Lebendnierenspender und 30 Tod-Nierenspender einbezogen.

Unter den Lebendspendern waren 9 Frauen und 6 Männer mit einem mittleren Alter von 51,2 Jahren (v = 33-74 Jahren).

Unter den Todspendern waren 15 Frauen und 15 Männer mit einem mittleren Alter von 46,3 Jahren (v = 16-75 Jahren).

Bei den Todspendern wurde nochmals nach Monospendern, d.h. es wurden nur die Nieren gespendet, und Multispendern, d.h. es wurden auch weitere Abdominal - und Thoraxorgane gespendet, unterschieden.

Bei Mono-Spendern wurden 2 Frauen und 7 Männer, bei Multi-Spendern wurden 14 Frauen und 7 Männer einbezogen.

	<b>Gesamt Anzahl</b>	<b>Frauen</b>	<b>Männer</b>	<b>Mittleres Alter</b>
<b>Lebendspender</b>	<b>15</b>	9 (60%)	6 (40%)	<b>51,2</b>
<b>Todspender</b>	<b>30</b>	15 (50%)	15 (50%)	<b>46,3</b>
Davon Monospenden	10	2	7	47,0
Davon Multispenden	20	14	7	46,0

Alle Todspender wurden durch das Explantationszentrum des Klinikum-Großhadern in München explantiert. Die Phase der Probenentnahmen erstreckte sich von Oktober 1998 bis November 1999.

Die Proben der Lebendspender wurden von den routinemäßig durchgeführten Lebendspenden im Klinikum-Großhadern im selben Zeitraum bezogen.

### 3.1.2 Todesursache der Todspender

Die Todesursachen der Todspender wurden unterteilt in solitär aufgetretene Subarachnoidalblutungen (SAB) und Schädelhirntraumata mit weiterreichenden Gewebeschädigungen (SHT).

Es wurden 14 SAB und 15 SHT unter den Todspendern in die Studie einbezogen.

Ein Nierenmonospender verstarb durch Ertrinken.

<b>Todesursache</b> des Spenders	Subarachnoidalblutung <b>(SAB)</b>	Schädelhirntraum <b>(SHT)</b>	Ertrinken
Anzahl	14	15	1

### 3.1.3 Liegedauer und OP-Dauer

Bei den betrachteten Todspendern wurde die Liegedauer in Tagen erfasst, die für einen potentiellen Spender zwischen dem Zeitpunkt seiner Einweisung ins Krankenhaus und der Explantation verging.

Weiterhin wurde die Operationsdauer jeder Explantation erfasst. Diese Zeitspanne wurde sowohl für Todspender als auch für Lebendspender erhoben, jeweils in Minuten.

### 3.1.4 Empfänger

Bei den Nierenempfängern resultiert eine andere Anzahl als bei den Nierenspendern, da von einem Todspender teilweise auch beide Nieren durch „Eurotransplant“ dem Klinikum Großhadern zugeteilt wurden und somit zwei Empfänger auf einen Spender kamen.

	<b>Lebendspenden Empfänger</b>	<b>Todspenden Empfänger</b>	Davon Nierenspende	Davon Multispende
<b>Mittleres Alter</b>	42,8	49,2		
<b>Frauen/Männer</b>	5(33,3%)/10(66,6%)	12(35,3%)/22(64,7%)		
<b>Anzahl</b>	15	34	10	24

Im postoperativen Verlauf wurde bei jedem Empfänger die Dauer erfasst, die eine transplantierte Niere benötigte um ihre Funktion aufzunehmen. Diese Zeitspanne wurde in Tagen gemessen. Weiterhin wurde eine Transplantatverschlechterung über das Auftreten einer akuten Tubulusnekrose (ATN) und einer akuten Abstoßungskrise definiert und festgehalten.

### 3.1.5 Perfusionslösungen und Zeiten

Bei der Explantation eines Todspenders wurden die betreffenden Organe in situ nach Entkopplung vom systemischen Kreislauf perfundiert. Hierzu wurde die jeweilige Gefäßversorgung des Organs bzw. Organpaketes möglichst weit vom systemischen Kreislauf abgegrenzt, um eine schnelle und effektive Perfusion der Organe zu erreichen.

Für eine Multispende, d.h. Niere mit weiteren Abdominal- und/oder Thoraxorganen, wurde zur systemische Perfusion UW Lösung nach Belzer (ViaSpann), University of Wisconsin, verwendet.

Bei alleiniger Nierenentnahme wurde dagegen mit HTK Lösung nach Bretschneider, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH in Alsbach-Hähnlein, systemisch perfundiert.

Alle Perfusionslösungen waren auf 4-5 °C gekühlt.

Bei der Perfusion von Multispendern wurde ein Perfusionsvolumen von 5 Liter eingesetzt. Das Perfusionsvolumen bei Nierenspendern betrug dagegen 4 Liter pro Spender.

Da die systemische Perfusion des Todspenders und die gleichzeitig erfolgende Oberflächenkühlung mit Eiswasser die beiden Faktoren bildeten, die zu einer schnellen Transplantatabkühlung führten, und so die Kaltischämiezeit einleiteten, war die Perfusionsdauer, die nötig war um das Perfusat zu infundieren, ebenfalls von Interesse und wurde festgehalten.

Perfusionsdauer in min.	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	28	Ges. n
Anzahl d. Kadaver-Nieren	1	1	1	4	2	1	4	2	4	2	4	2	2	30

Im Falle einer Lebendspende wurde die betreffende Niere noch körpertemperiert explantiert. Die sich daran anschließende extrakorporale Nachpräparation der Niere wurde unter ständiger externer Kühlung mit einer 4 bis 5 C° kalten Euro-Collins Lösung durchgeführt. Die effektive und schnelle Abkühlung wurde durch die sich unmittelbar an die Explantation der Niere anschließende „Back-Table Perfusion“ und die externe Kühlung mit Euro-Collins Lösung gewährleistet.

Eine in situ Perfusion und Kühlung konnte bei Lebendspenden nicht vorgenommen werden. Daher begann erst unmittelbar nach erfolgter Explantation eine Kühlung des Organs.

Die Dauer wurde auch hier für die einzelnen „Back-Table Perfusionen“ erfasst.

Perfusionsdauer in min.	3	4	5	6	7	Ges. n
Anzahl d. Lebend-Nieren	3	4	4	3	1	15

Für die „Back-Table Perfusion“ der Lebendspendernieren wurde jeweils 1 Liter einer Euro-Collins Perfusionslösung verwendet. Auch diese Lösung war auf 4-5°C temperiert. Eine sog. erste Warm-Ischämiezeit lag in beiden Fällen, Kadaver- bzw. Lebendspende, nicht vor.

Die Zeit vom Abklemmen bis zur Perfusion bei Kadaverspenden bzw. „Back-Table Perfusion“ bei Lebendspenden betrug in allen Fällen weniger als 1,5 min.

Ein weiterer Faktor, der die Qualität der Spenderniere beeinflussen konnte, war die Kaltischämiezeit der Kadaverorgane. Daher wurde auch die Dauer zwischen Explantation und nachfolgender Transplantation erhoben. Die Zeitspannen wurden in Stunden gemessen.

### 3.1.6 Serumproben

Es wurden von allen Nierenspendern, d.h. Todspendern und Lebendspendern, jeweils unmittelbar präoperativ und vor Explantation der betreffenden Organe 10ml Vollblut entnommen. Als Abnahmeorte wurden zentralvenöse oder zentralarterielle Zugänge verwendet.

Bei den Kadaverspenden musste darauf geachtet werden, dass die zweite Blutentnahme vor der systemischen Perfusion des Spenders erfolgte, um so eine mögliche Verdünnung der Blutproben durch die verwendete Perfusionslösung (UW/HTK) zu verhindern.

### 3.1.7 „Back-Table Proben“

Bevor die zu transplantierende Niere implantiert werden konnte, wurde sie nachpräpariert. Dazu legte man das Organ, im Falle einer Kadaverspende nachdem es aus den betreffenden Transportbeuteln genommen war, in eine mit Eiswasser gefüllte Präparationsschale.

Um kältebedingte Gewebeschäden an der Niere zu vermeiden, wurde ein Bauchtuch zwischen Niere und Eiswasser platziert. Nach erfolgter Feinpräparation des Organs wurde die Niere mit 250ml Ringer-Lactat-Lösung nachperfundiert (siehe oben).

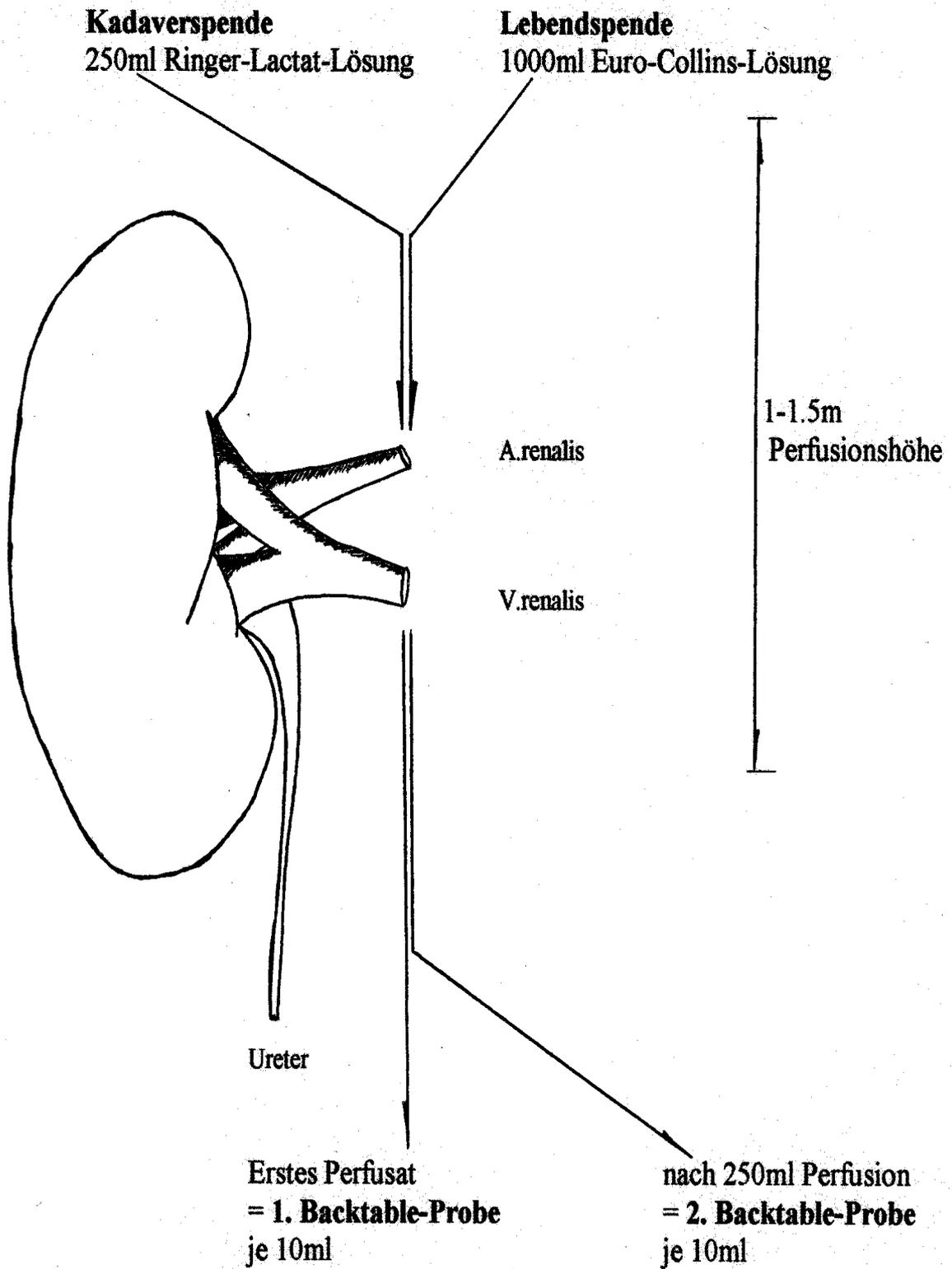
Bei Lebendspenden wurde diese Nachpräparation unmittelbar nach erfolgter Explantation durchgeführt. Für die Spülung des Organs wurden 1000ml einer EURO-COLLINS-Lösung verwendet. Es wurden jeweils zwei Proben genommen.

Als erste „Back-Table Probe“ wurde die erste Portion an Efluat, die aus der Nierenvene austrat, aufgefangen. Die zweite „Back-Table Probe“ wurde nach erfolgter Perfusion mit 250 ml Perfusat ebenfalls aus der Nierenvene entnommen. Beide „Back-Table Proben“ betragen 10 ml.

Da die „Back-Table Perfusion“ einer Lebendspenderniere insgesamt 1 Liter Volumen Umfang hatte, wurde die Zweite Probe nach erfolgter Perfusion von 250 ml EURO-Collins Lösung abgenommen, um ein gleiches Perfusionsvolumen sowohl bei Kadaver- als auch bei Lebendspendernieren zu erzielen.

Es wurde darauf geachtet, dass ein Perfusionsgefälle zwischen 1,0 und 1,5 Meter eingehalten wurde, um eine Nierenschädigung auf Grund eines erhöhten hydrostatischen Drucks zu vermeiden.

Nachfolgend eine schematische Darstellung der Nachperfusion (Backtable-Perfusion):



Backtable-Perfusion, Niere von ventral

## **3.2 Methode der Auswertung**

### 3.2.1 Enzymimmunassay

Die einzelnen Proben wurden für die Dauer des Transports auf Eis gekühlt und schnellstmöglich zentrifugiert.

Für den Transport wurden 10 ml Standard-Heparin Küvetten verwendet. Jeweils 5 ml-Portionen aus den einzelnen abzentrifugierten Proben wurden sofort bearbeitet. Der Überstand wurde für weitere Auswertungen bei minus 20 °C tiefgefroren. Hierfür wurden 1 ml fassende Einwegreaktionsgefäße verwendet, um ein möglichst schnelles Durchfrieren der Proben zu gewährleisten.

Die Dauer zwischen Probenabnahme und Auswertung betrug für die Backtable-Proben sowohl der Todspender-Nieren als auch der Lebendspendernieren weniger als 30 Minuten. Diese kurze Zeitspanne konnte erreicht werden, da die gewonnenen „Back-Table Proben“ direkt im Anschluss bearbeitet werden konnten und so keine Zeit für den Transport und die Lagerung benötigt wurde.

Auch die Blutproben der Lebendspender konnten innerhalb von 30 Minuten analysiert werden. Die Zeitspanne zwischen Probenabnahme und Analyse der von den Todspendern stammenden Blutproben betrug im Durchschnitt 3 Stunden.

Diese Differenz ist durch die häufig lang dauernde Rückfahrt aus dem Spenderkrankenhaus ins Klinikum Großhadern bedingt. Um eine Verfälschung der zu messenden Zytokinwerte während der Transportdauer zu verringern, wurden diese Proben auf Eis gelagert.

Zur Auswertung der Proben kamen die IMMULITE IL6, IL8, TNF-Alpha und IL2-R Testkits der Firma DPC, Los Angeles, USA (in Deutschland vertrieben über DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim) zum Einsatz.

IMMULITE ist ein vollautomatisiertes Immunoassaysystem. Es müssen im Abstand von 14 Tagen die in der Gerätesoftware gespeicherten Daten für die Standardkurve durch den Ansatz von zwei Adjustoren rekali­briert werden. Danach ist das Gerät jederzeit für die Messung von Proben einsatzbereit.

Die Testbestecke funktionieren auf der Basis des Sandwichimmunoassays. Die Festphase ist mit anti-Ligand-Molekülen beschichtet. Diese wird mit der Probe, den mit alkalischer Phosphatase und den Liganden markierten Antikörpern, die verschiedene Epitope der Analyten erkennen, für 30 Minuten bei plus 37°C inkubiert.

Das sich ausbildende Sandwich wird über die Ligand-Anti-Ligand Brücke an die Festphase gebunden, ungebundene Antikörper werden durch Spülung mit Wasser entfernt. Danach wird Substrat hinzugefügt und die Substratumsetzung, bei der Licht freigesetzt wird, über 10 Minuten im Luminometer gemessen. Das freigesetzte Licht ist dabei der Konzentration der Analyten proportional.

### 3.2.2 Standardwerte

Bei gesunden Probanden werden mit dieser Analyse­methode vom Hersteller folgende Werte als Normgrenzen ermittelt:

<b>Zytokin:</b>	<b>Werte:</b>
Interleukin-6 (n = 75 Probanden)	0-5,4 pg/ml (100%) / 99% unter 5 pg/ml
Interleukin-8 (n = 50 Probanden)	0-62 pg/ml (100%)
Interleukin-2-R (n = 87 Probanden)	223-710 U/ml (95%) / 391 U/ml (Median)
TNT-Alpha (n = 58 Probanden)	0-8,1 pg/ml (100%)

Diese Normwerte werden vom Hersteller als Anhaltswerte bezeichnet. Zur besseren Kontrolle können daher die präoperativ abgenommenen Lebendspenderwerte betrachtet werden.

Da diese Patienten zum Zeitpunkt der Probengewinnung operabel und gesund waren, können auch ihre präoperativen Werte als Normreferenz betrachtet werden.

Untenstehende Tabelle führt diese präoperativen Lebendspenderwerte gesondert auf:

<b>Zytokin:</b>		<b>Werte:</b>	
Interleukin-6	(n = 15 Probanden)	4,55	pg/ml (v = 2,2-5,0 )
Interleukin-8	(n = 15 Probanden)	5,63	pg/ml (v = 5,0-11,7 )
Interleukin-2-R	(n = 15 Probanden)	348,27	U/ml (v = 137,0-556,0)
TNT-Alpha	(n = 15 Probanden)	10,18	pg/ml (v = 5,0-15,0 )

Die vom Hersteller angegebenen absoluten Messbereiche stellen sich folgendermaßen dar:

<b>Zytokin:</b>	<b>Werte:</b>
Interleukin-6	5,0-2000 pg/ml
Interleukin-8	5,0-7500 pg/ml
Interleukin-2-R	50 -7200 U/ml
TNT-Alpha	5,0-1000 pg/ml

### 3.2.3 Kontrollgruppen

Als Kontrollgruppen wurden ersttransplantierte Nierenempfänger im Zeitraum von 1994 bis 1998 betrachtet. Alle Nierentransplantationen fanden im Klinikum Großhadern statt. Die Bedingungen, unter denen die Patienten der Kontrollgruppen transplantiert wurden, waren dieselben wie jene, unter denen die Patienten in unserer Studie transplantiert wurden. Das durchschnittliche Alter der Todspender differierte zwischen der Studiengruppe und der Kontrollgruppe nur unerheblich (46,3 Jahre Studie/48,7 Jahre Kontrolle). Ebenfalls bei den betrachteten Lebendspendern stellte sich kein großer Unterschied ein (51,2 Jahre Studie/50,6 Jahre Kontrolle).

Hinsichtlich der Todesursachen von Todspendern gab es keinen Unterschied zwischen der Studiengruppe und der Kontrollgruppe zu verzeichnen. Nachdem die Altersverteilung von Spendern und Empfängern und die Art der Todesursache sich

bei der Studiengruppe und auch bei der Kontrollgruppe nicht erheblich unterschieden, und es sich bei allen betrachteten Nierenempfängern um Ersttransplantationen ohne präformierte Antikörper handelte, wurde die Kontrollgruppe hinsichtlich dieser Parameter als „matched“ betrachtet.

Im einzelnen wurden folgende zwei Kontrollgruppen herangezogen: eine Gruppe von Ersttransplantierten, die eine Todspende erhalten hatte, und eine weitere Gruppe, die eine Lebendspende transplantiert bekommen hatte.

Die Todspender-Gruppe bestand aus 265 Patienten und die Lebendgruppe aus 60 Patienten. Das mittlere Alter der Empfänger einer Tod-Spende betrug 47,7 Jahre (v=6-71 Jahre) und 41,6 Jahre (v=7-73 Jahre) bei den Empfängern einer Lebendspende. Es waren 90 Frauen und 171 Männer unter den Empfängern einer todgespendeten Niere und 11 Frauen und 49 Männer unter den Empfängern einer lebendgespendeten Niere.

Die Kontrollgruppen wurden ebenfalls hinsichtlich ihres Outcomes betrachtet, d.h. es wurde das Auftreten einer akuten Abstoßungskrise, einer postoperativen akuten Tubulusnekrose (ATN), die Anzahl der notwendigen postoperativen Dialysen und die Dauer bis zur eigenständigen Urinproduktion betrachtet.

Nachfolgend die tabellarische Aufstellung der Kontrollgruppen:

	<b>mittleres. Alter</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Frauen</b>	<b>Männer</b>
<b>Todspender</b>	<b>48,7</b>	<b>260</b>		
<b>Lebendspender</b>	<b>50,6</b>	<b>60</b>		
<b>Tod-Empfänger</b>	<b>47,7</b>	<b>261</b>	<b>90 (35%)</b>	<b>171 (65%)</b>
<b>Lebend-Empfänger</b>	<b>41,6</b>	<b>60</b>	<b>11 (19%)</b>	<b>49 (81%)</b>
gesamt		321	101	220

### 3.2.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe des Programms SPSS 9.0 durchgeführt. Als statistische Testverfahren wurden zur Überprüfung von Korrelationen der Test nach Spearman bzw. Pearson angewandt. Abhängigkeiten wurden durch die Verwendung von T-, Wilcoxon und U-Test geprüft. Für den Vergleich zweier dichotomer Merkmale (ATN & Akute Abstoßung) wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson angewandt.

Die Erstellung der Graphiken erfolgte unter Excel 97; geschrieben wurde die Arbeit auf Word 97.

## 4 Ergebnisse

### **4.1 Sind die Zytokinwerte des Spenders abhängig von der OP - Dauer, der präoperativen Liegezeit, der Todesursache oder dem Umfang der Explantation?**

Hierzu wurden 30 Todspender und 15 Lebendspender betrachtet. Bei allen Spendern wurde unmittelbar vor dem Beginn der Explantation, d. h. vor dem Setzen eines Zugangstraumas und unmittelbar vor der systemischen Perfusion des Spenders bzw. Explantation des Organs, jeweils eine Blutprobe entnommen (Siehe hierzu auch: Serum Proben).

Die Operationsdauer wurde vom Anfang der Explantation bis zur Entnahme der Niere bzw. Nieren in Minuten gemessen.

Bei den Todspendern wurde die Todesursache und die Art der Spende in SAB und SHT und Mono- bzw. Multi-Spender unterteilt. Auch die präoperative Liegedauer der Todspender bis zum Erfolgen der Explantation wurde in Tagen festgehalten.

Im einzelnen interessierten folgende Fragen:

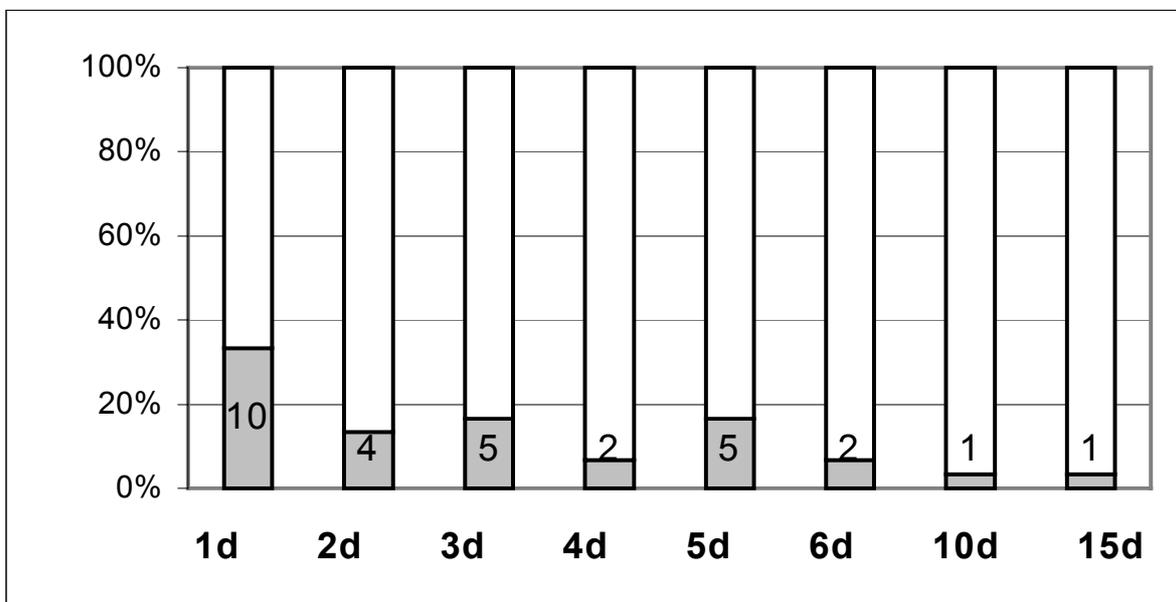
- Steht die Liegezeit der Todspender, die Dauer zwischen Einweisung und Explantation, im Zusammenhang mit den gemessenen präoperativen Zytokinwerten?
- Sind die präoperativen Zytokinwerte abhängig von den Umständen des Todes, d.h. ist ein Unterschied zwischen Spendern mit einem tödlichen Schädelhirntrauma und Spendern mit einer tödlich verlaufenden Subarachnoidalblutung festzustellen?
- Hat die Art der Explantation, d.h. der Umfang der Entnahme, Auswirkungen auf die postoperativen Zytokinwerte?
- Spielt die Dauer der Operation eine Rolle für die Höhe der postoperativen Zytokinwerte?

Bei der statistischen Auswertung wurde für den Nachweis einer eventuell vorliegenden Korrelation der Test nach Spearman für nichtparametrische Korrelationen angewandt.

Im Falle einer Abhängigkeitsprüfung wurde ein T-Test für nicht verbundene Stichproben verwendet. Im Vorfeld wurden die Datensätze durch eine Schnellprüfung nach David und Mitarbeiter (1954) auf ihre Normalverteilung hin untersucht.

Nachfolgend ein Diagramm der Liegezeiten und Tabellen der Todesursachen, Art der Explantationen und der erhobene Explantationsdauer.

Graphische Darstellung der präoperativen Liegezeiten:



Die Anzahl der Patienten wird innerhalb der Graphik erfasst.

Todesursache der Todspender:

	Anzahl d. Spender
<b>SAB</b>	<b>14</b> (46,7%)
<b>SHT</b>	<b>15</b> (50,0%)
sonstiges	<b>1</b> (3,3%)
gesamt	30

Ein Todspender verstarb durch Ertrinken, und wird in obiger Tabelle unter sonstiges aufgeführt.

Art der Explantation:

	Todspender	Lebendspender
<b>Monospenden</b>	<b>9</b> (30%)	
<b>Multispenden</b>	<b>21</b> (70%)	
<b>Lebendspenden</b>		<b>15</b>
gesamt	30	15

Explantationsdauer:

Minuten	Todspender	Lebendspender	Gesamt Anzahl der Spender
60		1	1
75		2	2
80		1	1
90		2	2
95	1		1
100		1	1
105	2	2	4
110	1	1	2
120	4	2	6
130	3		3
135	1	1	2
140	1		1
145	1		1
150	1		1
155	1		1
160	4		4
165	1		1
175		1	1
180	1	1	2
200	2		2
210	1		1
220	2		2
230	1		1
250	1		1
260	1		1
gesamt	30	15	45

Für die präoperative Liegezeit der Todspender konnte keine Korrelation zu den präoperativ gemessen Zytokinwerten bestätigt werden. Für die einzelnen Zytokinwerte konnten lediglich Korrelationskoeffizienten zwischen 0,015 und 0,141 berechnet werden.

Es ist somit kein Zusammenhang zwischen der präoperativen Liegedauer eines Todspenders und den unmittelbar vor der Explantation erhobenen Zytokinwerten zu bestätigen.

Nachfolgend die einzelnen Korrelationen zwischen Liegezeit und den gemessenen Zytokinen (Spearman Test):

	<b>II 6 – prä OP</b>	<b>II 8 – prä OP</b>	<b>TNF – prä OP</b>	<b>II 2-R – prä OP</b>
<b>Korrelationskoeffizient</b>	<b>0,199</b>	<b>-0,222</b>	<b>-0,023</b>	<b>0,099</b>
Signifikanz (2-seitig)	0,292	0,239	0,903	0,605
n	30	30	30	30

Die Art der Todesursache weist ebenfalls keinen Zusammenhang mit den präoperativen Zytokinwerten auf. Bei der Signifikanztestung der beiden Untergruppen (SAB & SHT) konnten keine Unterschiede in den Ausprägungen der einzelnen Zytokinmuster erkannt werden. Die Signifikanzniveaus lagen zwischen 0,228 und 0,969 und sind somit weit von 0,05 entfernt.

Es kann kein Unterschied zwischen den beiden Untergruppen festgestellt werden und somit auch kein Unterschied zwischen den Todesursachen hinsichtlich der Zytokinausschüttung.

Nachfolgend die Signifikanzen zwischen den beiden betrachteten Todesursachen:

	<b>II 6 – prä OP</b>	<b>II 8 – prä OP</b>	<b>TNF – prä OP</b>	<b>II 2-R – prä OP</b>
<b>Signifikanz (2-seitig)</b>	<b>0,228</b>	<b>0,887</b>	<b>0,359</b>	<b>0,969</b>
n1/n2	14/15	14/15	14/15	14/15

Auch die Differenzierung in Monospender (also Spender bei denen nur die Nieren explantiert wurden) und Multispender, denen noch weitere Organe entnommen wurden, spielt bei der Ausprägung der postoperativen Zytokinwerte keine Rolle. Es wurden auch hier Untergruppen gebildet (Mono & Multi) und durch einen unverbundenen T-Test verglichen. Die Signifikanzniveaus lagen auch hier weit oberhalb von 0,05 (zwischen 0,413 und 0,896).

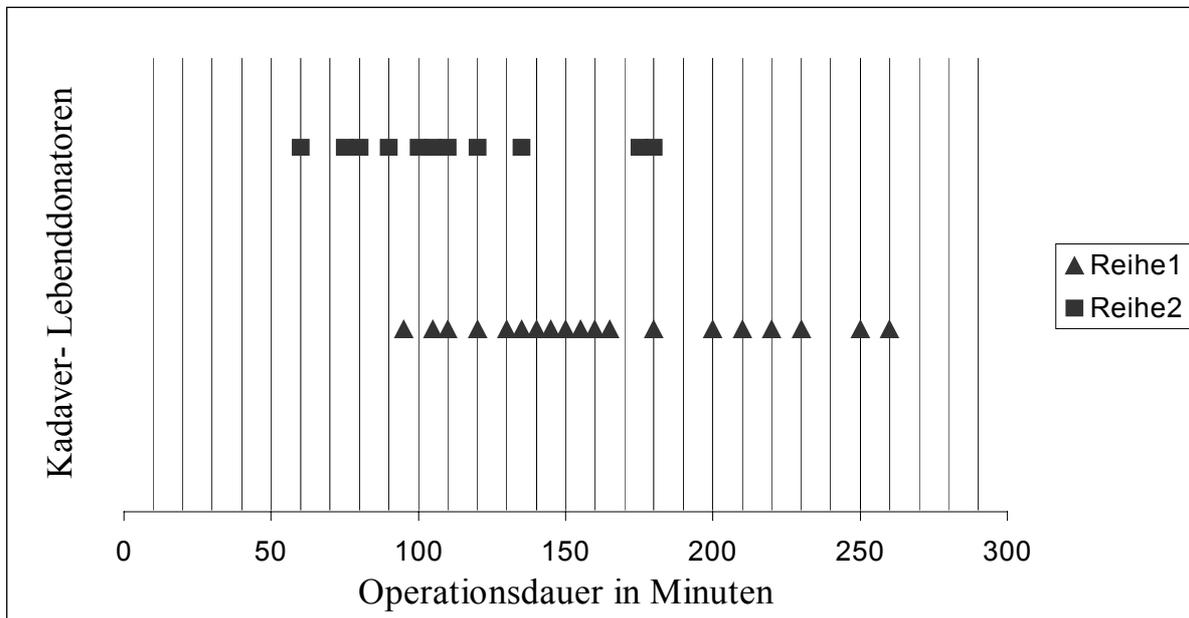
Nachfolgend die einzelnen Signifikanzen zwischen den Untergruppen (Nieren/Multispender):

	<b>Il 6 – post OP</b>	<b>Il 8 – post OP</b>	<b>TNF – post OP</b>	<b>Il 2-R – post OP</b>
<b>Signifikanz (2-seitig)</b>	<b>0,505</b>	<b>0,896</b>	<b>0,413</b>	<b>0,457</b>
n1/n2	9/21	9/21	9/21	9/21

Ebenfalls die Dauer der Explantation weist keine Korrelation zu den gemessenen postoperativen Zytokinwerten der Todspender und Lebendspender auf. Weder für Interleukin-8, Interleukin-6 und TNF-Alpha, noch für Interleukin-2-Rezeptor ist eine Korrelation nachzuweisen. Die graphische Darstellung der Operationsdauer lässt erkennen, dass sich die Operationsdauer von Lebendspenden und Kadaverspenden doch unterscheiden. Trotzdem ist keine Korrelation zu den erhobenen postoperativen Zytokinwerten erkennbar.

Im einzelnen betrachtet liegen folgende Korrelationen für Kadaver- und Lebend-Spender vor:

Die Operationsdauern von Kadaver- und Lebendspender graphisch dargestellt:



Todspender werden durch *Reihe 1* repräsentiert, Lebendspender sind in *Reihe 2* erfasst.

Todspender:

	<b>II 6 – post OP</b>	<b>II 8 – post OP</b>	<b>TNF – post OP</b>	<b>II 2-R – post OP</b>
<b>Korrelation</b>	<b>0,169</b>	<b>0,052</b>	<b>0,238</b>	<b>0,075</b>
Signifikanz (2-seitig)	0,372	0,787	0,205	0,693
n	30	30	30	30

Lebendspender:

	<b>II 6 – post OP</b>	<b>II 8 – post OP</b>	<b>TNF – post OP</b>	<b>II 2-R – post OP</b>
<b>Korrelation</b>	<b>0,410</b>	<b>-0,271</b>	<b>-0,364</b>	<b>-0,309</b>
Signifikanz (2-seitig)	0,129	0,328	0,183	0,262
n	15	15	15	15

Zusammenfassung:

Auf die Frage, inwieweit die Höhe der Spenderzytokine durch die vier untersuchten Faktoren beeinflusst wird, kann man feststellen, dass weder die Todesursache des Spenders, der Umfang einer Explantation, die Dauer einer Explantation noch die präoperative Liegedauer eines Spenders einen nachweislichen Einfluss auf die Höhe der untersuchten Zytokine hat.

#### **4.2 Unterscheiden sich die Zytokinwerte von Lebendspender und Todspender?**

Der Unterschied zwischen Kadaver- und Lebendspendern erscheint auf den ersten Blick offensichtlich.

Der Hirntod ist das definierende Kriterium eines Todspenders und bildet somit den Hauptunterschied zu einem Lebendspender. Der Tod des Spenders wird durch eine Traumatisierung hervorgerufen. Der Status des Hirntodes und die verursachende Traumatisierung sind demnach die beiden Unterschiede zwischen Kadaver- und Lebend-Spender.

Die Verletzungen, die zum Tode eines Todspenders führen, sind aber überwiegend von geringfügiger Ausdehnung und meistens streng auf Schädelhirntraumata beschränkt. Eine fulminante Traumatisierung von Thorax und Abdomen würde einen Verstorbenen als Todspender meistens aus Gründen der Organgüte ausschließen.

Die geringe physikalische Traumatisierung der Todspender warf im einzelnen folgende Fragen auf:

- Ob und wie stark unterscheiden sich die Zytokinwerte von Lebendspendern und Todspendern?
- Können überhaupt Veränderungen durch die Explantation erkannt werden?

Nachfolgend werden die einzelnen gemittelten Zytokinwerte der prae- und postoperativen Betrachtungszeitpunkte aufgeführt:

Interleukin-6

		präoperativ	postoperativ	Signifikanz
<b>Todspender</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>663,2667</b>	<b>1060,9833</b>	0,000
	Anzahl	30	30	
	Standardabweichung	497,8921	1407,0441	
<b>Lebenspender</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>4,5467</b>	<b>12,3867</b>	0,001
	Anzahl	15	15	
	Standardabweichung	1,0013	12,9657	

Interleukin-8

		präoperativ	postoperativ	Signifikanz
<b>Todspender</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>66,5567</b>	<b>124,8467</b>	0,000
	Anzahl	30	30	
	Standardabweichung	99,1644	163,0968	
<b>Lebenspender</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>5,6267</b>	<b>6,4533</b>	0,097
	Anzahl	16	15	
	Standardabweichung	1,7231	1,5501	

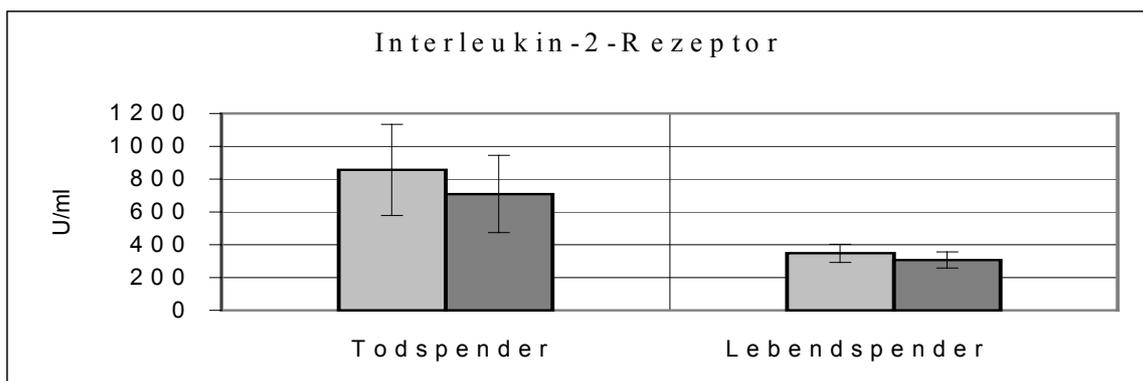
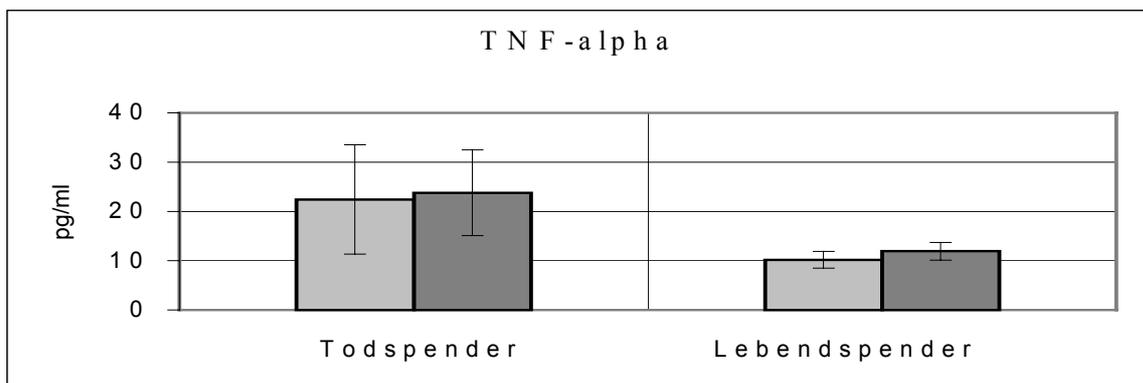
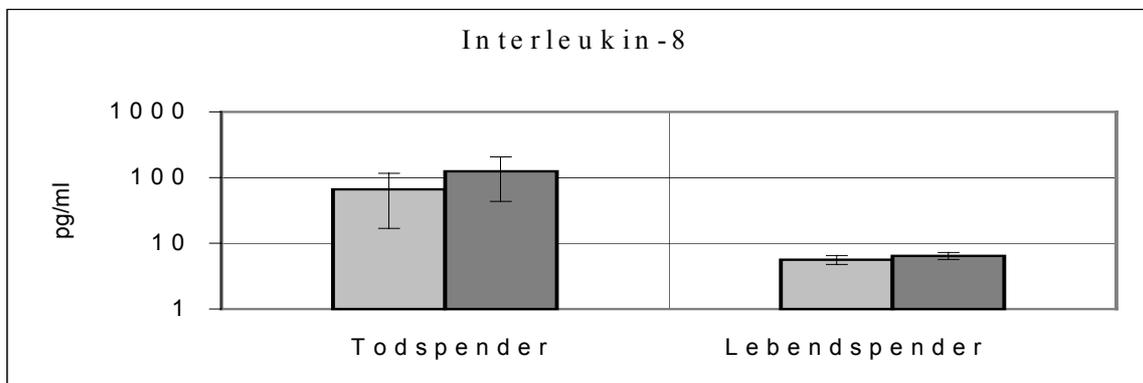
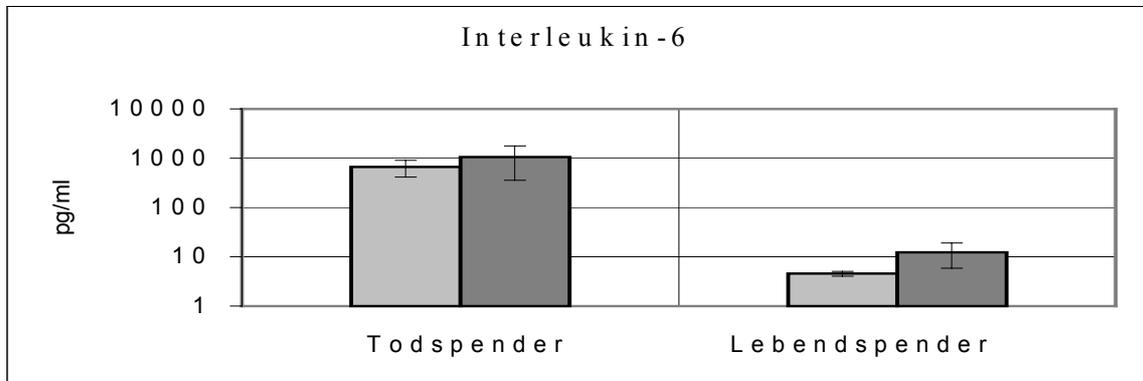
TNF-Alpha

		präoperativ	postoperativ	Signifikanz
<b>Todspender</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>22,4100</b>	<b>23,7833</b>	0,304
	Anzahl	30	30	
	Standardabweichung	22,2064	17,3487	
<b>Lebenspender</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>10,1800</b>	<b>11,9333</b>	0,044
	Anzahl	15	15	
	Standardabweichung	3,3979	3,5650	

Interleukin-2-Rezeptor

		präoperativ	postoperativ	Signifikanz
<b>Todspender</b>	<b>Mittelwert (U/ml)</b>	<b>856,2100</b>	<b>709,8333</b>	0,000
	Anzahl	30	30	
	Standardabweichung	554,9922	471,8892	
<b>Lebenspender</b>	<b>Mittelwert (U/ml)</b>	<b>348,2667</b>	<b>307,0667</b>	0,002
	Anzahl	15	15	
	Standardabweichung	111,6061	97,4698	

Um die erheblichen Unterschiede zwischen Todspendern und Lebendspendern zu verdeutlichen werden die gemittelten prae- bzw. postoperativen Zytokinwerte nun graphisch dargestellt:



Für die statistische Bearbeitung der Fragen wurde zuerst die Normalverteilung der Datensätze geprüft. Da es sich bei den vorliegenden Werten um nicht normalverteilte Werte handelt, wurde für die Signifikanzprüfung ein nichtparametrischer Wilcoxon-Test bzw. U-Test angewandt.

Bei der Betrachtung der obigen Mittelwerte ist ein klarer Unterschied zwischen Todspendern und Lebendspendern festzustellen. Diese Beobachtung konnte auch durch ein hoch signifikantes Ergebnis im U-Test bestätigt werden. Somit unterscheiden sich alle gemessenen Zytokine hinsichtlich der Spendenart. Die Signifikanzniveaus lagen für alle vier Zytokine und Betrachtungszeitpunkte (prae-, postoperativ) bei 0,000.

Die Zytokinveränderungen während einer Explantation, d.h. der beobachtete Anstieg bzw. Abfall, wurden ebenfalls auf ihre Signifikanzen getestet. Es konnte überall eine signifikante Veränderung nachgewiesen werden. Lediglich für den beobachteten Interleukin-8 Anstieg bei Lebendspenden und dem TNF-Anstieg der Todspender konnte keine Signifikanz in der Abhängigkeit von präoperativem und postoperativem Wert nachgewiesen werden.

Im einzelnen ergaben sich folgende Signifikanzen für die Cytokinveränderungen:

	Tod.sp II 6	Tod.sp II 8	Tod.sp TNF	Tod.sp. II 2-R	Leb.sp. II 6	Leb.sp. II 8	Leb.sp. TNF	Leb.sp. II 2-R
Signifikanz (2-seitig)	0,000	0,000	<b>0,304</b>	0,000	0,001	<b>0,097</b>	0,044	0,002
n	30	30	30	30	15	15	15	15

Zusammenfassung:

Bei der Betrachtung von Todspendern im Gegensatz zu Lebendspendern konnte ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Spendergruppen festgestellt werden. Alle vier gemessenen Zytokine weisen bei den jeweiligen Betrachtungszeitpunkten einen hoch signifikanten Unterschied auf. Die Untersuchung der Zytokinveränderungen während der Explantation ergab ebenfalls signifikante Ergebnisse. So konnte gezeigt werden, dass sich die Interleukin-6 Spiegel während der Operation sowohl bei den Kadaver- als auch bei den Lebendspendern signifikant erhöhen. Die Interleukin-8-Spiegel wiesen nur bei Todspendern einen signifikanten Anstieg auf. TNF Veränderungen erwiesen sich lediglich bei Lebendspendern als signifikant. Auch der Abfall der gemessenen Interleukin-2-Rezeptor Werte war signifikant.

Man kann also einen erheblichen Unterschied zwischen Todspendern und Lebendspendern hinsichtlich der einzelnen Zytokinwertausprägungen und deren Veränderungen im Laufe einer Explantation feststellen.

**4.3 Kann eine Backtable Perfusion die intravasalen Zytokinwerte einer explantierten Niere senken?**

Unmittelbar vor der Transplantation wurden 30 explantierte Nieren von Todspendern und 15 explantierte Nieren von Lebendspendern einer Nachperfusion/Back-Table Perfusion unterzogen.

Die dazu verwendeten Perfusionslösungen und Mengen werden untenstehend aufgeführt:

Art des Spenders	Perfusionslösung bei Entnahme	Menge	Perfusionslösung für Back-Table	Menge
Todspender/ Solo	<b>HTK</b>	4000ml	<b>Ringer-Lactat</b>	250ml
Todspender/ Multi	<b>UW</b>	5000ml	<b>Ringer-Lactat</b>	250ml

Art des Spenders	Perfusionslösung	Menge-gesamt	Probe II nach
Lebenspende	Euro.Collins	1000ml	250ml

Wie bereits unter „Material“ beschrieben wurden lebendgespendete Nieren direkt nach der Explantation perfundiert und für die anschließende Transplantation auf den Empfänger vorbereitet. Nieren von Todspendern konnten hingegen erst nach erfolgreichem Transport nachperfundiert werden, bevor sie ebenfalls auf die Transplantation durch eine Feinpräparation vorbereitet wurden.

Es stellten sich im einzelnen folgende Fragen:

- Ist es möglich, durch eine unmittelbar einer Transplantation vorausgehenden Nachperfusion/Backtable-Perfusion der Niere den Zytokinload des Organs zu senken?
- Kann man durch diese Nachperfusion/Back-Table-Perfusion den Zytokinload von Tod-Nieren auf das Niveau von lebendgespendeten Nieren senken?

Für die statistische Auswertung wurde ein nichtparametrischer Wilcoxon-Test verwendet, da es sich bei den betrachteten Daten nicht um normalverteilte Werte handelt.

In folgenden Tabellen werden die einzelnen gemittelten Zytokinwerte der Back-Tableproben I und II aufgezeigt:

Interleukin-6

		Probe I	Probe II	Signifikanz
<b>Tod - Nieren</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>418,8529</b>	<b>174,7088</b>	0,000
	Anzahl	30	30	
	Standardabweichung	380,6291	254,8369	
<b>Lebend - Nieren</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>98,6600</b>	<b>34,7133</b>	0,001
	Anzahl	15	15	
	Standardabweichung	53,2362	35,3387	

Interleukin-8

		Probe I	Probe II	Signifikanz
<b>Tod - Nieren</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>297,2794</b>	<b>85,326</b>	0,000
	Anzahl	30	30	
	Standardabweichung	533,6507	139,2563	
<b>Lebend - Nieren</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>23,8400</b>	<b>17,7733</b>	0,012
	Anzahl	15	15	
	Standardabweichung	12,5678	8,7789	

TNF-Alpha

		Probe I	Probe II	Signifikanz
<b>Tod - Nieren</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>46,2500</b>	<b>30,7912</b>	0,000
	Anzahl	30	30	
	Standardabweichung	39,2078	14,6408	
<b>Lebend - Nieren</b>	<b>Mittelwert (pg/ml)</b>	<b>12,5133</b>	<b>14,2200</b>	0,041
	Anzahl	15	15	
	Standardabweichung	2,8043	3,9882	

Interleukin-2-Rezeptor

		Probe I	Probe II	Signifikanz
<b>Tod - Nieren</b>	<b>Mittelwert (U/ml)</b>	<b>192,0147</b>	<b>58,8912</b>	0,000
	Anzahl	30	30	
	Standardabweichung	128,5432	13,7871	
<b>Lebend - Nieren</b>	<b>Mittelwert (U/ml)</b>	<b>117,1733</b>	<b>50,0000</b>	0,001
	Anzahl	15	15	
	Standardabweichung	58,5526	0,0000	

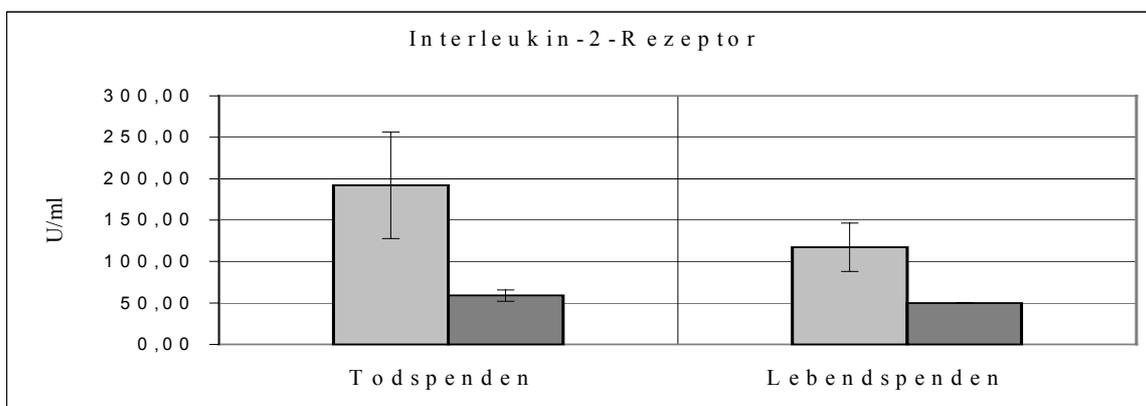
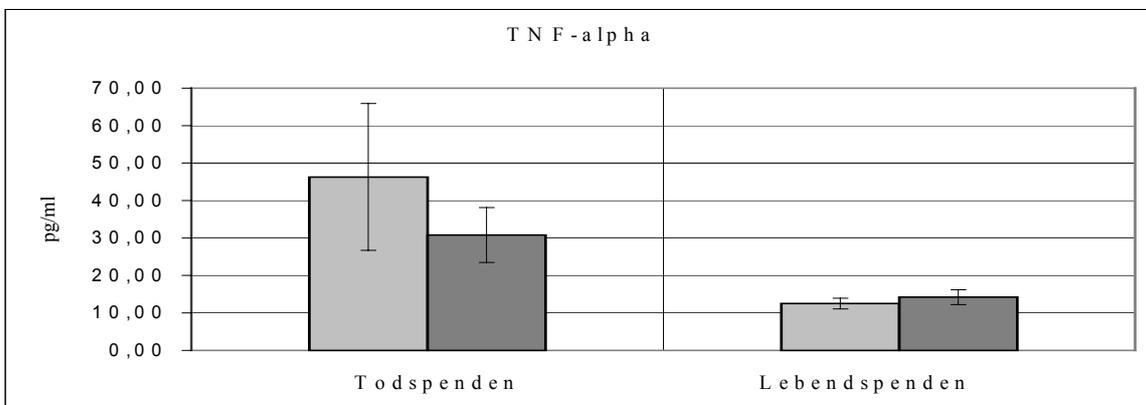
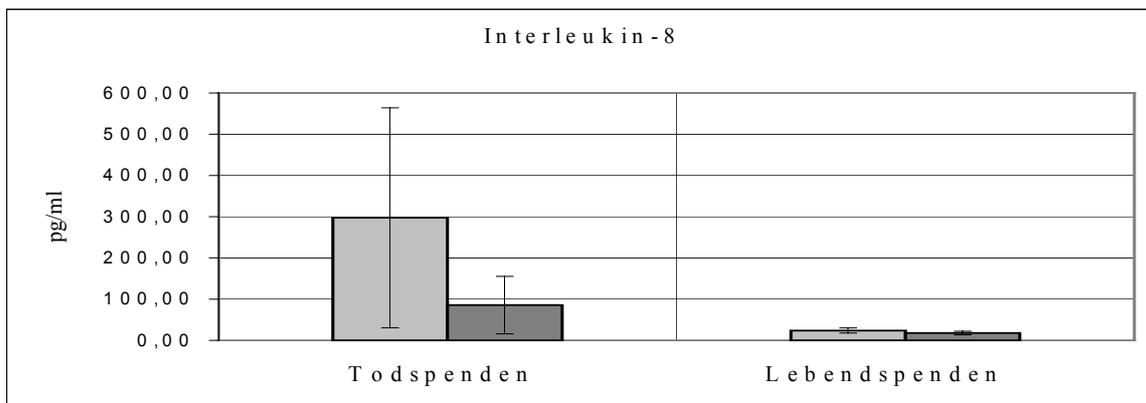
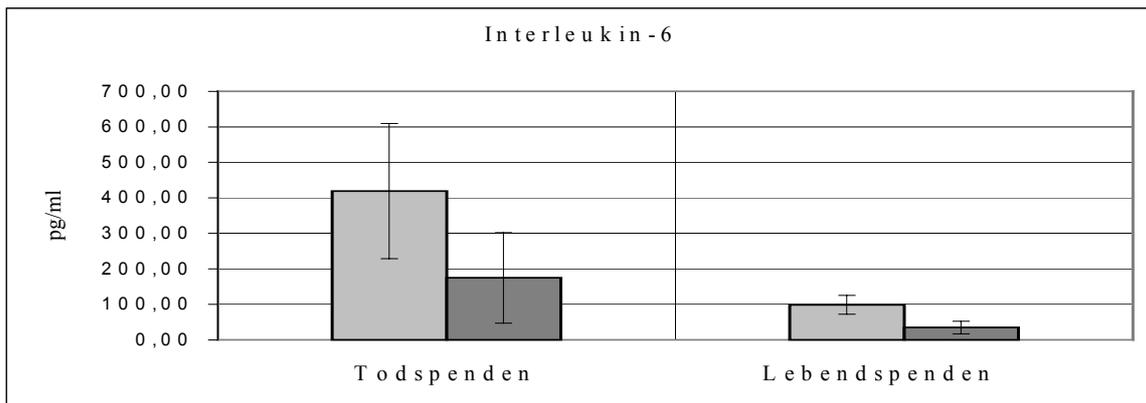
Aus den gemessenen Zytokinwerten in den Proben I und II war ein eindeutiger Abfall der Zytokinwerte durch die Back-Table-Perfusion zu erkennen. Lediglich der beobachtete TNF Anstieg bei der Backtable Perfusion von Lebendspender-Nieren ist mit 0,041 nur gering signifikant und ohnehin fraglich. Naheliegender ist, bedingt durch die geringe Fallzahl der Lebendspenden (n=15), eine Persistenz der TNF Werte.

Alle anderen Zytokinwerte weisen hingegen einen hochsignifikanten Abfall durch die Nachperfusion mit 250 ml Perfusat auf.

Nachfolgend die einzelnen Signifikanzen der gemessenen Zytokine zwischen Probe I/II:

<b>Art des Spenders</b>	Tod. <b>IL 6</b>	Tod. <b>IL 8</b>	Tod. <b>TNF</b>	Tod. <b>IL 2-R</b>	Leb. <b>IL 6</b>	Leb. <b>IL 8</b>	Leb. <b>TNF</b>	Leb. <b>IL 2-R</b>
Signifikanz (2-seitig)	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	<b>0,012</b>	<b>0,041</b>	<b>0,001</b>
n	15	15	15	15	30	30	30	30

Grafische Darstellung der gemittelten Zytokinwerte in den Backtable-Proben I & II:

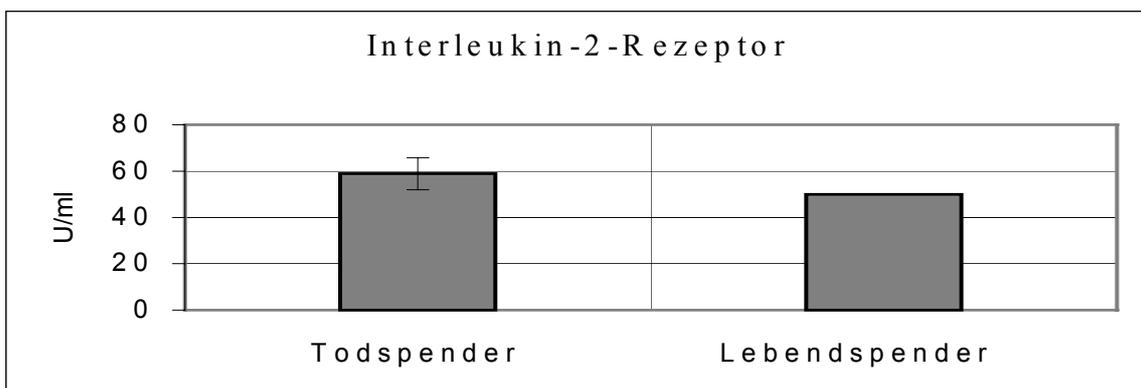
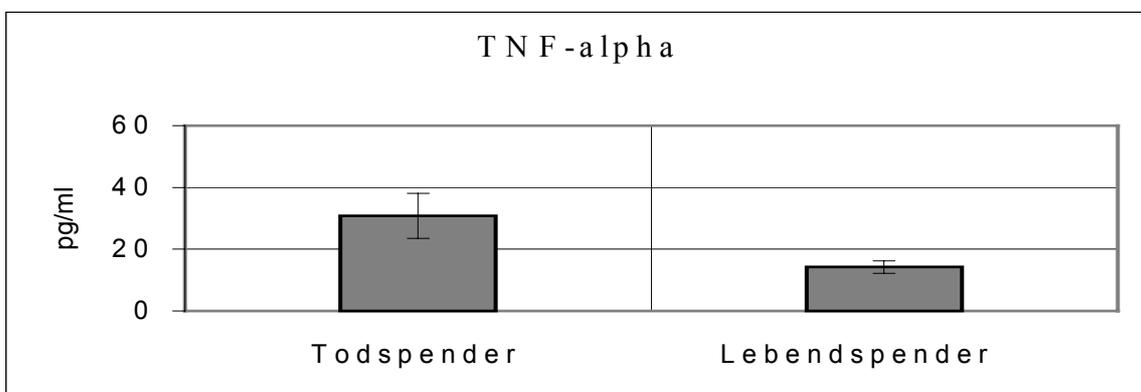
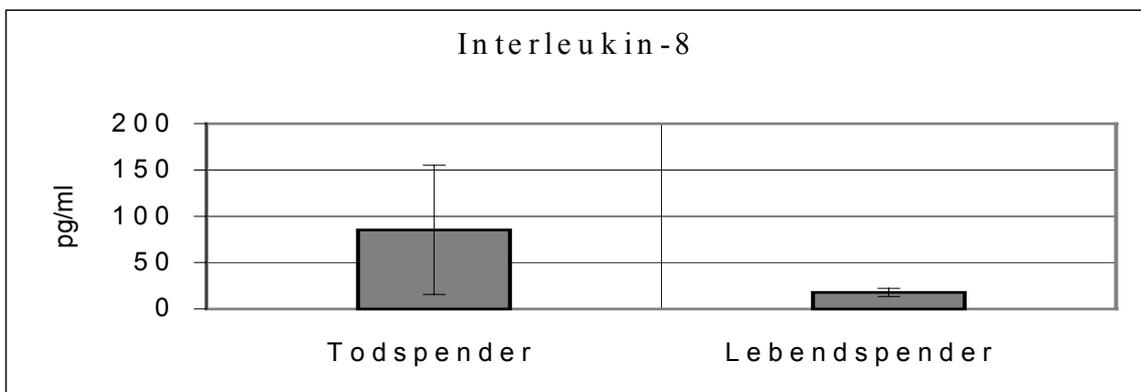
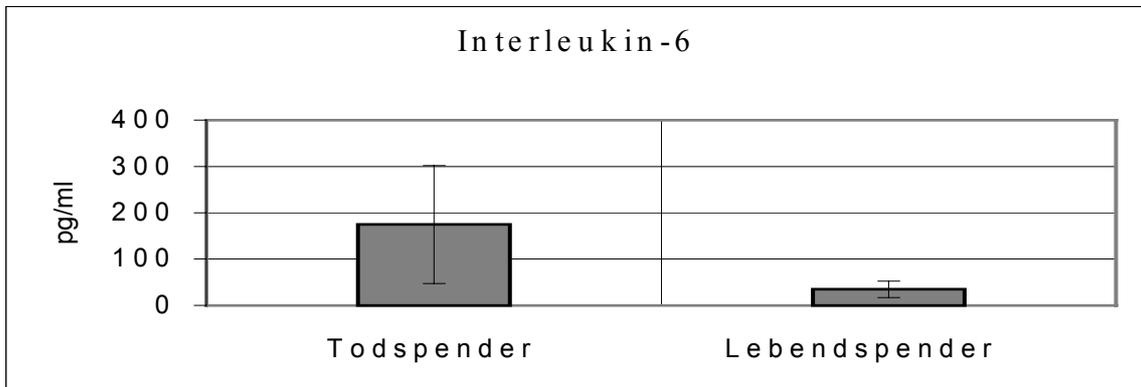


Um zu prüfen ob durch eine Nachperfusion die Zytokinwerte einer Kadaverspende auf das Niveau einer Lebendspende gesenkt werden können, wurden jeweils die Backtable-Proben II von Tod-Nieren und Lebend-Nieren betrachtet. Hierbei konnte für alle vier Zytokine ein signifikanter Unterschied zwischen den Spenderarten festgestellt werden. Somit besteht trotz Backtable-Perfusion immer noch ein signifikanter Unterschied zwischen Kadaver- und Lebend-Spende, und es scheint nicht möglich Tod-Nieren auf ein ähnlich niedriges Niveau., wie es bei lebendgespendeten Nieren zu erreichen ist, „herunter zu perfundieren“.

Nachfolgend die einzelnen Signifikanzen zwischen Kadaver- und Lebend-Spender-Nieren nach erfolgter Backtable-Perfusion (Probe II):

	<b>IL 6</b>	<b>IL 8</b>	<b>TNF</b>	<b>IL 2-R</b>
<b>Signifikanz (2-seitig)</b>	<b>0,003</b>	<b>0,008</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>
n1/n2	30/15	30/15	30/15	30/15

Um die Unterschiede in den Backtable-Proben II, zwischen Todspendern und Lebendspendern zu verdeutlichen, werden die Messergebnisse graphisch dargestellt:



### Zusammenfassung:

Durch die Anwendung einer Nach-/Back-Table-Perfusion bei den zu transplantierenden Nieren konnte der Zytokinload der Organe signifikant gesenkt werden. Es war möglich alle betrachteten Zytokine (IL6, IL8, TNF und IL-2-R) signifikant zu senken. Auffällig war ein leichter Anstieg des TNF-Wertes durch die Nachperfusion der Lebendspender-Nieren. Da dieser Anstieg nur gering signifikant ist und sich die betrachteten Fallzahlen auf einem geringen Niveau befanden, ist aber eher von einer Stagnation des TNF-Wertes auszugehen.

Weiterhin war es nicht möglich durch eine Nachperfusion die Zytokinwerte der Tod-Nieren auf ähnlich niedrige Werte „herunterzuspülen“, wie es bei lebendgespendeten Nieren möglich war. Die betrachteten Todspender-Nieren wiesen im Gegensatz zu Lebendspender-Nieren nach einer Back-Table-Perfusion immer noch signifikant höherer Werte auf.

#### **4.4 Hat die Backtable-Perfusion Auswirkungen auf die Transplantatfunktion?**

Hierzu wurde die Testgruppe, bestehend aus 30 Kadaverspenden, in Relation zu einer Kontrollgruppe gesetzt. Diese Kontrollgruppe bestand aus 265 Kadaverspenden, die zwischen 1994 und 1998 unter identischen Bedingungen im Klinikum-Großhadern erst transplantiert wurden.

Als Bewertungspunkte der Transplantatfunktionen wurden die Anzahl der postoperativen Dialysesitzungen, die Dauer bis zur eigenen Harnausscheidung und das Auftreten einer akuten Tubulusnekrose und einer Abstoßungskrise betrachtet.

Die durchschnittliche Dauer bis zur ersten Eigenurinproduktion wurde nicht signifikant beeinflusst. Auch die postoperativ im Durchschnitt benötigten Anzahlen von Dialysen der Nierenempfänger konnte nicht verringert werden. Für beide Parameter konnte kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Als Testverfahren wurde ein U-Test für unverbundene Stichproben herangezogen.

Es stellten sich folgende Signifikanzen ein:

	<b>Dauer bis zur Urinproduktion (d)</b>	<b>Anzahl der benötigten Dialysen</b>
<b>Signifikanz (2-seitig)</b>	0, 079	0, 359
n1/n2	30/265	30/265

Bei der Frequenz von akuten Tubulusnekrosen (ATN) konnte ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den Gruppen erkannt werden. Es wurden in der Kontrollgruppe weniger ATN-Fälle verzeichnet als in unserer Studiengruppe.

Jedoch trat in unserer Testgruppe (also in jenem Kollektiv, das eine Todspenderniere transplantiert bekommen hatte, die zuvor einer Back-Table-Perfusion unterzogen worden war) weniger häufig eine akute Abstoßungskrise auf. Diese beobachteten prozentualen Veränderungen konnten im Falle der ATN-Raten durch einen ChiQuadrat-Test bestätigt werden. Das Ergebnis für die akute Abstoßungskrise weist nur knapp keine Signifikanz auf. Die ermittelte

Unabhängigkeit wurde noch als schwach signifikant (0,025) und als nichtsignifikant (0,098) im Falle der akuten Abstoßungs-Raten ausgewiesen. Ob die festgestellten Differenzen zwischen Studiengruppe und Kontrollgruppe zu halten sind oder durch die geringe Fallzahl zu erklären sind, ist nicht zu erkennen.

Im einzelnen stellen sich folgende Häufigkeiten dar:

Tod-Nieren:

	Akute Abstoßungskrise		Akute Tubulusnekrose (ATN)		Gesamt n
	Nein	Ja	Nein	Ja	
<b>Studie</b> Tod-Nieren	27 (90,0%)	<b>3 (10,0%)</b>	18 (60,0%)	<b>12 (40,0%)</b>	30
<b>Kontrolle</b> Tod - Nieren	210 (79,25%)	<b>55 (20,75%)</b>	203 (76,61%)	<b>62 (23,39%)</b>	265

ChiQuadrat	2,734	5,008	
Signifikanz	0,098	0,025	

Zusammenfassung:

Durch die Anwendung einer Nachperfusion bei Todspender-Nieren konnte im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die nicht nachgespülte Nieren erhalten hatte, kein eindeutig erhöhter Benefiz nachgewiesen werden.

Weder die Anzahl der postoperativen Dialysen noch die Dauer bis zur ersten Eigenurinproduktion unterschieden sich signifikant von der Kontrollgruppe.

Bei der Häufigkeitsverteilung von akuten Abstoßungskrisen und ATN wurden Unterschiede festgestellt. So lag die Häufigkeit von ATN-Fällen in der Studiengruppe auf einem höheren Niveau als in der Kontrollgruppe. Die Häufigkeit von akuten Abstoßungskrisen lag dagegen in der Studiengruppe auf einem niedrigeren Niveau als in der Kontrollgruppe. Diese gegenläufigen Ergebnisse verwundern und werfen die Frage auf, ob die Fallzahl von 30 betrachteten Patienten aussagekräftig genug ist.

**4.5 Stehen die Kaltischämiezeiten der Nieren im Zusammenhang mit den gemessenen Zytokinwerten der Backtable-Proben I ?**

Hierzu wurden die einzelnen Kaltischämiezeiten der betreffenden Nieren und die gemessenen Zytokinwerte in den Backtable-Proben I betrachtet. Ein Zusammenhang wurde mit einem nichtparametrischen Korrelationstest nach Spearman überprüft. Wie sich zeigte, ist keine Korrelation zwischen den betrachteten Kaltischämiezeiten und den betreffenden Zytokinwerten der Backtable-Proben I zu erkennen.

Nachfolgend die einzelnen Kaltischämiezeiten und Korrelationen zu den betrachteten Zytokinen:

<b>Kaltischämiezeit (h)</b>	<b>8</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>22</b>	<b>24</b>	<b>27</b>	<b>28</b>	<b>32</b>	n
<b>Anzahl der Nieren</b>	1	3	6	2	4	1	2	3	1	2	2	2	3	1	1	34

	<b>IL 6 – Probe I</b>	<b>IL 8 – Probe I</b>	<b>TNF – Probe I</b>	<b>IL 2-R – Probe I</b>
<b>Korrelation</b>	<b>0,193</b>	<b>0,110</b>	<b>-0,076</b>	<b>-0,071</b>
<b>Sig.(2-seitig)</b>	<b>0,273</b>	<b>0,535</b>	<b>0,669</b>	<b>0,691</b>
n	34	34	34	34

Wie zu ersehen ist, lagen die Lagerungsperioden der einzelnen Organe zwischen 8 und 32 Stunden. Die im ersten Perfusat gemessenen Zytokinwerte konnten keine Korrelation zu den betreffenden Kaltischämiezeiten erkennen lassen.

Der höchste Korrelationskoeffizient war für Interleukin-6 zu erkennen, lag aber mit 0,193 auf einem so geringen Niveau, dass man nicht von einer Korrelation sprechen kann.

Zusammenfassung:

Die Kaltischämiezeiten der einzelnen betrachteten Nieren lagen zwischen 8 und 32 Stunden. Bei der Untersuchung der Zytokinwerte, die in den Backtable-Proben I der gespülten Nieren gemessen wurden, konnte keine Korrelation zwischen der Dauer der Lagerungsperiode und der Höhe der Zytokinwerte erkannt werden.

Somit steht die Länge der Kaltischämiezeit in dem betrachteten Zeitraum in keinem Zusammenhang mit der Zytokinbelastung der Nieren.

#### **4.6 Stehen die Spenderzytokinwerte im Zusammenhang mit den gemessenen Zytokinwerten der Backtable-Proben I ?**

Nachdem in obiger Fragestellung kein Zusammenhang mit der Lagerungsdauer zu erkennen war, interessierte nun, ob die postoperativ gemessenen Zytokinwerte eines Spenders mit der effektiven Zytokinbelastung der gespendeten Niere, also mit dem Zytokinload des ersten Perfusats, in Zusammenhang stehen.

Es wurden die Werte von 44 Nierenspendern, darunter Lebend- wie auch Todspender, und 44 Erstperfusate der betreffenden Nieren untersucht. Auch hier wurden die Korrelationen zwischen postoperativen Werten und Backtable-Proben I durch einen nichtparametrischen Korrelationstest nach Pearson untersucht.

Im folgenden die einzelnen Korrelationen:

	<b>IL 6 - post OP</b>	<b>IL 8 - post OP</b>	<b>TNF - post OP</b>	<b>IL 2-R - post OP</b>
<b>IL-6 Backtable I</b> Signifikanz (2-seitig)	<b>0,240</b> 0,116			
<b>IL-8 Backtable I</b> Signifikanz (2-seitig)		<b>0,860</b> 0,000		
<b>TNF Backtable I</b> Signifikanz (2-seitig)			<b>0,828</b> 0,000	
<b>IL-2-R Backtable I</b> Signifikanz (2-seitig)				<b>0,555</b> 0,000

Wie zu erkennen ist, besteht für Interleukin-8, TNF und Interleukin-2-Rezeptor eine hochsignifikante Korrelation zwischen der Höhe des postoperativen Spenderzytokinlevels und den Zytokinwerten im Perfusat I. Lediglich Interleukin-6 kann keine Korrelation zwischen den beiden Proben aufweisen. Dies bedeutet, dass das postoperative Zytokinniveau des Spenders eine Bedeutung für den Zytokinload der betreffenden Spenderniere hat.

#### Zusammenfassung:

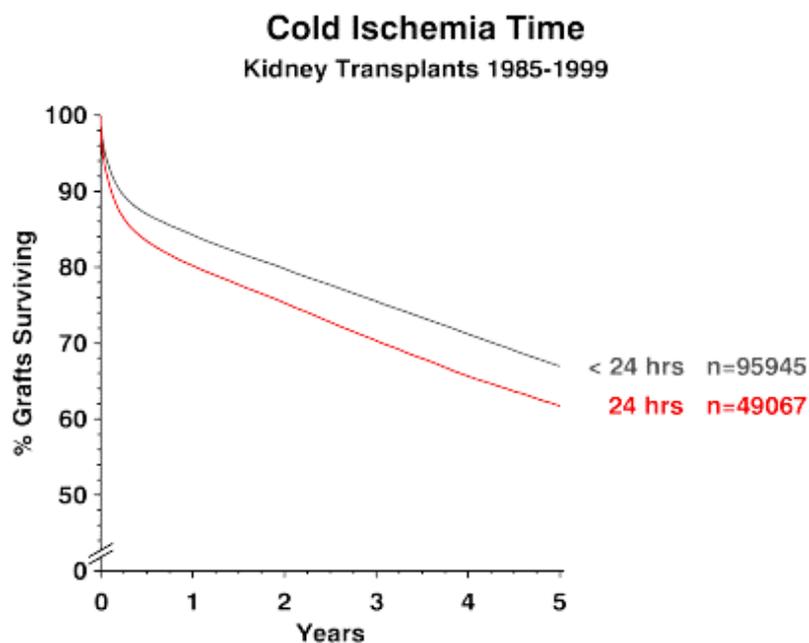
Bei der Betrachtung der Zytokinwerte der Back-Tableprobe I konnte kein Zusammenhang mit der Kaltischämiezeit festgestellt werden. Daraufhin stellte sich die Frage, ob die Höhe der postoperativen Zytokinwerte des Spenders mit dem Zytokinload der betreffenden Nieren im Perfusat I korreliert. Bei der Betrachtung der Korrelationskoeffizienten kann man erkennen, dass Interleukin-8, TNF und Interleukin-2-Rezeptor eine hohe Korrelation aufweisen. Somit sind die Ausprägungen im Backtableperfusat I dieser Zytokine abhängig von der Höhe der postoperativen Spenderwerte.

Hingegen ist eine positive Aussage über die Korrelation zwischen dem postoperativen Wert und der Backtableprobe I für Interleukin-6 nicht zutreffend.

## 5 Diskussion

Die Problemstellung der Verwendbarkeit eines Explantates zur Organverpflanzung ist oft schwer zu lösen. Bislang zählte dabei der Zustand des Spenders, insbesondere die jeweiligen funktionellen Organparameter, und die persönliche Erfahrung des Operateurs in der subjektiven Beurteilung eines Organs.

Es bestehen viele Einflussfaktoren, die offensichtlich die Funktion eines Spenderorgans beeinflussen können. Hierzu zählen zum Beispiel das Alter (47) eines Spenders, der vorhandene Status des Hirntodes (34) wie auch die Kaltischämiezeit des Organs. Die folgende Graphik soll die Transplantatfunktion in Abhängigkeit zur vorangegangenen Kaltischämiezeit veranschaulichen.



Daher erscheint die Messung von Zytokinen sowohl beim Spender als auch im Backtable-Perfusat als Maß für Veränderungen im Spenderorganismus interessant.

Auch die gezeigte Möglichkeit, die Zytokinwerte eines Transplantates durch eine Backtable-Perfusion signifikant senken zu können, eröffnet die Möglichkeit für weiterführende protektive Maßnahmen.

So ist es zum Beispiel möglich, das betreffende Organ während des gesamten Transportes vom Spender- zum Empfängerhaus zu perfundieren. In den USA wird zu diesem Zweck ein vollautomatischer Pulsationsperfusomat der Firma Water-Medical - Systems angeboten.

Durch die verbesserte Konservierung und das permanente Ausschwemmen der anfallenden Zytokine und Verminderung der dadurch bedingten immunologischen Prozesse könnten postoperative Vorteile des Empfängers resultieren.

So wird von kürzeren Dialysephasen, geringeren ATN-Raten und einem verbesserten Langzeit-Outcome berichtet (28).

## **5.1 Methodik**

Bei der Wahl der Abnahmezeitpunkte der einzelnen Proben musste zum einen auf eine sinnvolle zeitliche, so wie auch auf eine logistische Abstimmung geachtet werden.

Die erste - unmittelbar vor Operationsbeginn abgenommene Blutprobe stellt einen neutralen Wert dar, der den Zytokinload des Spenders abbildet ohne die Verfälschung eines Zugangstraumas. Zeitlich wurde die Abnahme so angesetzt, dass die normalen präoperativen Vorbereitungen nicht in ihrem Ablauf gestört wurden. Die zweite - sich am Ende der Explantation anschließende Blutprobenentnahme wurde einige Minuten vor Explantation der Organe angesetzt. Diese Probe bildet die Zytokinwerte des Spenders unmittelbar vor der Explantation der Organe, also vor Beginn der Kaltischämiezeit, ab. Das während der Operation entstandene Trauma kann so durch eine Zytokinwertveränderung beobachtet werden. Es musste darauf geachtet werden die postoperativen Proben so zu gewinnen, dass noch keine Verdünnung des Blutes durch die systemische Perfusion erfolgt war.

Die obigen Blutproben wurden überwiegend über arterielle Zugänge abgenommen. Vereinzelt wurden dafür auch zentralvenöse Zugänge verwendet. Einen Unterschied in der Zytokinausprägung zwischen beiden Abnahmeorten konnte nicht festgestellt werden. Somit scheint es keine Rolle zu spielen, ob die Proben arteriell oder venös gewonnen wurden.

Die Proben der Nachperfusion wurden ebenfalls ohne eine wesentliche Beeinträchtigung des normalen Ablaufes abgenommen. Zur Abnahme der Probe I wurde das erste aus der Nierenvene austretende Efluat aufgefangen. Diese Probe repräsentiert somit die Zytokinwerte der Kadaver gespendeten Nieren nach überdauerter Kaltischämieperiode. Für lebendgespendete Nieren stellte diese Probe die effektive postoperative Zytokinbelastung dar, da sich für diese Nieren keine Kaltischämieperiode an die Explantation anschließt.

Probe II wurde einheitlich nach Perfusion von 250 ml Perfusat abgenommen und repräsentiert die Möglichkeit einer Zytokinveränderung durch eine Nachperfusion.

Die Auswertung der einzelnen Proben konnte in unmittelbarer räumlicher Nachbarschaft erfolgen. Somit konnten die Blutproben der Lebendspender und alle Backtable-Perfusionsproben ohne wesentliche zeitliche Verzögerungen ausgewertet werden. Im Falle der Todspender konnten die Blutproben, bedingt durch den Rücktransport, erst im Durchschnitt 3 Stunden nach Abnahme ausgewertet werden, was aber zu keinerlei Beeinträchtigung führte.

## **5.2 Zytokine**

Für die Auswertung der Proben wurde, wie unter „Methode der Auswertung“ besprochen, ein Enzymimmunoassay der Firma DPC verwendet. Da es sich bei diesem Verfahren um ein vollautomatisches und stark standardisiertes Assayverfahren handelt, konnten somit Fehler durch unterschiedliche Testansätze und Differenzen in einzelnen Testkomponenten minimiert werden. Außerdem trug die schnelle Einsatzfähigkeit des Systems dazu bei, dass die auszuwertenden Proben schnell und ohne eine Zwischenlagerung bearbeitet werden konnten.

Die Entscheidung für die vier gemessenen Zytokine (Interleukin-6, Interleukin-8, TNF und Interleukin-2-Rezeptor) wurde aufgrund ihrer klinischen Relevanz getroffen. So stellen Interleukin-6 und TNF-Alpha mittlerweile einen diagnostischen Standard für Entzündungen und Abstoßungen dar (6/43/19). Auch die relativ zentralen Stellungen innerhalb des Zytokinregelwerke, soweit bis heute bekannt,

machten diese Zytokine interessant. Der Interleukin-2-Rezeptor scheint insbesondere eine solche zentrale Rolle zu spielen (29).

### **5.3 Zytokinwerte der Organspender**

Bei der Betrachtung der unterschiedlichen Zytokinwerte der einzelnen Spenderkollektive fallen erhebliche Unterschiede auf. So sind die gemessenen Werte bei Lebendspenden sowohl präoperativ als auch postoperativ erheblich niedriger als jene, die bei den betrachteten Todspenden gefunden wurden. Insbesondere war dieser Unterschied bei Interleukin-6 und Interleukin-8 zu beobachten, was auf eine starke Aktivierung des Immunsystems bei Todspenden schließen lässt.

Im Falle von Interleukin-6 lag der gemittelte präoperative Wert für Lebendspender bei 4,55pg/ml im Gegensatz dazu für Todspender bei 663,27 pg/ml. Auch die präoperativen Werte für Interleukin-8 waren stark unterschiedlich (Lebendspender 5,63 pg/ml / Todspender 66,56 pg/ml). Für TNF-Alpha und Interleukin-2-Rezeptor stellte sich ein ähnliches Bild ein.

Hier lagen die präoperativen Zytokinwerte der Todspender rund doppelt so hoch wie die Werte der Lebendspender.

Diese außergewöhnliche Divergenz erstaunt und es stellt sich die Frage nach der Ursache für diesen gravierenden Unterschied. Daher wurden verschiedene Faktoren untersucht, die den Spenderwert beeinflussen konnten.

Bei der Betrachtung der Todesursachen wurden die Todspender in zwei Gruppen aufgeteilt. In die Gruppe der SAB-Spender wurden nur Patienten aufgenommen, die an einer solitären cerebralen Blutung ohne weitere Traumatisierung verstorben waren. Die Gruppe der SHT-Spender umfasste auch Patienten, die neben einer cerebralen Traumatisierung noch weitere parenchymatöse Verletzungen erlitten hatten.

In keine der beiden Gruppen wurden hingegen Patienten aufgenommen, welche ausgedehnte Weichteilverletzungen aufwiesen. Daher ist die starke Divergenz

zwischen Lebendspendern und Todspendern um so eindrucksvoller je mehr man den geringen Umfang der Parenchymverletzungen von Todspendern betrachtet. Da sich zeigte, dass der Unterschied zwischen SAB und SHT nicht in den gemessenen Zytokinausprägungen der Todspender wiederzufinden ist, scheint allein die Tatsache des Hirntodes für die exzessive Erhöhung der Zytokinniveaus verantwortlich zu sein.

Auch die weiteren Parameter, wie präoperative Liegedauer des Spenders und Art der Explantation, wiesen keinen Einfluss auf die Spenderzytokine auf. Die Dauer der präoperativen Liegeperiode der Todspender umfasste überwiegend nur wenige Tage. Diese geringe Verweildauer zwischen dem Eintreten des Hirntodes und der Explantation der gespendeten Organe war vermutlich der Grund für die Kontinuität der präoperativen Zytokinniveaus der Todspender. Bei einem längeren Verweilen des potentiellen Spenders auf einer Intensivstation und einer allgemeinen Verschlechterung des Patienten wäre wahrscheinlich eine Veränderung des Zytokinmusters zu erwarten.

Auch die Art der Explantation lies keine Unterschiede hinsichtlich der Zytokinausprägungen zwischen einer Spende von Nieren und einer Multiorganentnahme erkennen.

Die effektive Operationsdauer konnte ebenfalls keine Korrelation zu den betrachteten Zytokinwerten aufweisen. Weder die Gruppe der Todspender noch die der Lebendspender wiesen eine Korrelation zwischen Operationsdauer und postoperativen Zytokinwerten auf.

Ob diese Ergebnisse die Realität wirklich objektiv abbilden oder vielmehr auf die Größe der betrachteten Studiengruppen zurückzuführen sind, bleibt zu klären.

Nachdem die betrachteten Einflussfaktoren keine nachweislichen Effekte auf die Ausprägung der prä- bzw. post-operativen Spenderzytokinwerte haben, fällt bei der Betrachtung des intraoperativen Verlaufes der gemittelten prä- bzw. post-operativen Werte eine Veränderung auf. Es ist zu erkennen, dass sich die Werte für Interleukin-6 und Interleukin-8 im Laufe einer Explantation signifikant erhöhen.

Die Werte für Interleukin-2-Rezeptor weisen dagegen einen Abfall während der Dauer der Operation auf. Der für Interleukin-6, Interleukin-8 und TNF-Alpha zu verzeichnende intraoperative Anstieg bei Todspendern ist als fortschreitende Aktivierung des Immunsystems während der Explantation zu werten. Auffällig ist der nur leichte und nicht signifikante Anstieg von TNF-Alpha.

Lebenspender weisen hingegen bei Interleukin-8 nur eine geringe Steigerung auf, die ebenfalls als nicht signifikant gewertet werden muss. Diese unterschiedlichen Ausprägungen im Interleukin-8 und TNF-Alpha Muster legen ebenfalls die Vermutung nahe, dass sich Todspender in ihrem Aktivitätsniveau hinsichtlich ihres Zytokinregelwerkes, von Lebenspendern grundlegend unterscheiden.

Es wird ebenfalls von erhöhten Zytokin-Leveln in der Literatur berichtet (2). Im Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass Episoden von fokalen cerebralen Ischämien eine Erhöhung von Interleukin-6 und TNF-Alpha bewirken können (53).

Dieser Unterschied zwischen Lebend- und Tod-Spendern scheint sich auch in einer unterschiedlich langen Transplantatüberlebenszeit zu reflektieren (45). So wird von nicht-antigenabhängigen Risikofaktoren berichtet, die unter anderem für eine späte Graftreaktion verantwortlich scheinen (48). Die während und nach dem Eintreten eines Hirntodes ablaufenden Prozesse sind noch weitestgehend unbekannt. In der Literatur wird in diesem Zusammenhang vom Einsetzen eines „autonomen Sturmes“ mit Eintreten des Hirntodes berichtet. Im Rahmen dieser Veränderungen kommt es anfänglich zu einer sympathisch veranlassten Blutdrucksteigerung, die von einer normotonen bzw. hypotonen Blutdrucklage im späteren Verlauf abgelöst wird. Ergebnisse im Rattenmodell weisen darauf hin, dass die exzessive Katecholaminausschüttung zu einer Erhöhung des vaskulären Widerstandes, mit daraus resultierenden erhöhten Perfusionsdrücken führt (21). Die sich anschließende normoton bzw. hypotone Phase wird durch einen Abfall der sympathischen Aktivität begleitet. Durch diese Beruhigung der Sympathikusaktivität vermindert sich ebenfalls der kardiale Antrieb und die hämodynamische Situation kann sich weiter verschlechtern (17). Diese hämodynamischen Veränderungen im Laufe eines Hirntodes werden als Ursache für weitere pathologische Erscheinungen betrachtet, die in ihrer Folge zu einer hämodynamischen Minderversorgung führen können.

Es wird von Koagulopathien, persistierender Hypotonie, Hypothermie und pulmonalen Veränderungen berichtet (8).

Diese durch einen Hirntod eintretenden Veränderungen könnten somit mitverantwortlich sein für die wesentlich besseren Ergebnisse bei Lebendspenden.

Neben diesen als „autonomer Sturm“ bezeichneten, hämodynamischen Veränderungen werden noch weitere hormonelle Verschiebungen beschrieben. Dieser zweite Komplex von Veränderungen wird einer Dysfunktion des hypothalamischen Regelwerkes zugeschrieben. In Tiermodellen konnte das Auftreten eines neurogenen Diabetes insipidus und Veränderungen im Thyroxin- und Cortisol-Haushalt nachgewiesen werden. Diese hormonellen Änderungen werden als Ursache für eine mitochondriale Minderfunktion auf zellulärer Ebene betrachtet (31).

Durch die hämodynamische Minderversorgung auf der einen Seite und den hormonellen Fehlregulationen auf der anderen Seite ist eine qualitative Verschlechterung der Organe eines potentiellen Todspenders allein durch die Tatsache des eingetretenen Hirntodes zu erwarten.

#### **5.4 Zytokinwerte der Perfusate**

Die Möglichkeit einer Nachperfusion wurde anhand eines Modells überprüft, bei dem alle betrachteten kadavergespendeten Nieren mit einem Volumen von 250 ml nachperfundiert wurden. Das Perfusat der ebenfalls untersuchten lebendgespendeten Nieren wurde während der Nachperfusion, die sich unmittelbar an die Explantation anschloss, abgenommen. Wie sich zeigte sind auch hier erhebliche Unterschiede in der Ausprägung von Zytokinen zwischen Kadaverspenden und Lebendspenden zu verzeichnen.

Die Frage, ob die Nach- bzw. Backtable-Perfusion eine effektive Methode darstellt um den Zytokinload einer Spenderniere zu verringern, kann eindeutig bejaht werden. Es war möglich die Werte für Interleukin-6, Interleukin-8, TNF-Alpha und Interleukin-2-Rezeptor signifikant durch eine Nachperfusion zu verringern. In diesem Zusammenhang ist es interessant, dass es nicht möglich war durch eine

Back-Table-Perfusion der Kadaverspenden annähernd gleich niedrige Zytokinwerte in Probe II zu erzielen, wie es für Lebendspenden möglich war. Probe II wies zwischen einer Kadaverspende und einer Lebendspende einen signifikanten Unterschied auf.

Damit war es möglich den Zytokinload einer Spenderniere zwar zu senken, es war aber nicht möglich den erhöhten Zytokinload einer Kadaverspende durch eine Back-Table-Perfusion auf das Niveau einer Lebendspende zu senken.

Die unmittelbar vor Beginn der Perfusion herrschende Zytokinbelastung eines Spenderorgans wurde hinsichtlich ihres Zusammenhangs mit den postoperativen systemischen Zytokinwerten der Spender und den Kaltischämiezeiten der Organe betrachtet. Beide Parameter schienen einen direkten Einfluss auf die Höhe der intrarenalen Zytokinwerte zu haben. Für die betrachteten Kaltischämieperioden konnte kein Zusammenhang zur Probe I der Nachperfusion bestätigt werden. Somit ist in dem betrachteten Zeitraum von 8 bis 32 Stunden keine signifikante Änderung der vier Zytokine zu beobachten.

Die unmittelbar bei der Explantation herrschende Höhe der Zytokine, gemessen in der postoperativen Serumprobe der Spender, steht dagegen in Zusammenhang mit der Höhe der Werte in Probe I. Damit ist auch hier nicht von einer Erhöhung oder einem Abbau der Zytokine während der Lagerungsperiode auszugehen.

Abschließend wurden die postoperativen Verläufe der Nierenempfänger anhand klinischer Parameter beurteilt. Es wurden die Häufigkeiten von postoperativ benötigten Dialysesitzungen und die Dauer bis zur eigenständigen Urinproduktion betrachtet. Für beide Ereignisse konnte kein signifikanter Unterschied zwischen nachperfundierten Kadaverspenden und einer nicht perfundierten Kontrollgruppe erkannt werden.

Bei dem Vergleich der Studiengruppe mit der Kontrollgruppe, die identischen Rahmenbedingungen unterlag hinsichtlich dem Auftreten von akuten Tubulusnekrosen (ATN) und Abstoßungskrisen, wurde kein eindeutiger Benefiz durch eine Nachperfusion nachgewiesen. Es traten in 10,0% akute Abstoßungskrisen innerhalb der Studiengruppe auf, wohingegen 20,75% der Empfänger innerhalb der Kontrollgruppe eine Abstoßungskrise erlitten.

Da der einzige Unterschied zwischen Studien- und Kontroll-Gruppe in der Nachperfusion der Spendernieren bestand, könnte man die Verringerung der Häufigkeit von akuten Abstoßungsereignissen auf die Tatsache einer Backtable-Perfusion zurückführen. Die Signifikanz dieses Unterschiedes liegt mit 0,098 aber nicht im hochsignifikanten Bereich.

Hierzu im Widerspruch steht allerdings die Häufigkeitsverteilung von akuten Tubulusnekrosen. 40,0% aller Empfänger innerhalb der Studiengruppe wiesen eine ATN auf, wohingegen nur 23,39% aller Kontrollgruppenempfänger eine ATN zu beklagen hatten. Dieser Unterschied war mit 0,025 hochsignifikant.

Diese an sich widersprüchlichen Ergebnisse verwundern zuerst.

Bei näherer Betrachtung ergibt sich ein Ansatz aus der Bedeutung von ATN- und Abstoßungs-Zwischenfällen. So ist das Auftreten einer akuten Tubulusnekrose Zeichen einer direkten Tubulusschädigung der Niere, die durch die Geschehnisse der Explantation, der Lagerungsperiode und der Transplantation verursacht werden kann. Eine Abstoßungskrise hingegen resultiert aufgrund einer Aktivierung des Empfängerimmunsystems. Diese Aktivierung des Immunsystems könnte maßgeblich durch die eingeschwemmten Zytokine der Spenderniere getriggert werden.

Unter dieser Betrachtung erscheinen die Resultate verständlich. Es konnte die Rate der Abstoßungskrisen bei den Empfängern, die eine gespülte Kadaverniere erhalten hatten, verringert werden. Hingegen hatte die Backtable-Perfusion auf das Auftreten einer akuten Tubulusnekrose keinen positiven Einfluss. Vielmehr könnte die erhöhte ATN-Rate auf ein erneutes und verlängertes Spülen der Nieren zurückzuführen sein, was eine erhöhte und verlängerte Belastung des Organs bedeuten könnte.

Die Verringerung der Abstoßungskrisen basiert möglicherweise auf einem geringeren Zytokinload der Spendernieren. Damit ist durch die Anwendung einer Backtable-Perfusion ein direkter Vorteil für den Empfänger anzunehmen.

## **5.5 Zusammenfassung**

### **Sind die Zytokinwerte des Todspenders abhängig von:**

der Explantationsdauer?

der Todesursache des Spenders?

der Art der Organspende (Multi/Solo)?

der Intensivaufenthaltsdauer des Spenders vor der Explantation?

Weder die Todesursache des Spenders, der Umfang einer Explantation, die Dauer einer Explantation noch die präoperative Liegedauer eines Spenders hatte einen nachweislichen Einfluss auf die Höhe der untersuchten Zytokine.

### **Unterscheiden sich die Zytokinwerte von Lebendspendern und Todspendern?**

Alle vier gemessenen Zytokine weisen bei den jeweiligen Betrachtungszeitpunkten einen hoch signifikanten Unterschied auf.

### **Ist ein Unterschied zwischen präoperativen und postoperativen Zytokinwerten der Spender zu erkennen?**

Die Untersuchung der Zytokinveränderungen während der Explantation ergab ebenfalls signifikante Ergebnisse.

### **Kann eine Backtable Perfusion der Niere die Zytokinwerte im Efluat senken?**

Durch die Anwendung einer Nach-/Back-Table-Perfusion bei den zu transplantierenden Nieren konnte der Zytokinload der Organe signifikant gesenkt werden.

### **Wird durch die Backtable Perfusion der Zytokinload von Tod - Nieren auf ein ähnlich niedriges Niveau gesenkt wie bei einer Lebendspende?**

Es war nicht möglich durch eine Nachperfusion die Zytokinwerte der Tod-Nieren auf ähnlich niedrige Werte „herunterzuspülen“, wie es bei lebendgespendeten Nieren möglich war

**Hat die Backtable Perfusion Auswirkungen auf die Transplantatfunktion?**

Durch die Anwendung einer Nachperfusion bei Todspender-Nieren konnte im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die nicht nachgespülte Nieren erhalten hatte, kein eindeutig erhöhter Benefiz nachgewiesen werden.

**Spielt die Dauer der Kaltischämiezeit für die Höhe der Zytokinwerte im Perfusat eine Rolle?**

Es konnte keine Korrelation zwischen der Dauer der Lagerungsperiode und der Höhe der Zytokinwerte erkannt werden

**Spielt die Höhe der postoperativen Zytokinwerte eine Rolle für die Höhe der Zytokinwerte im Perfusat?**

Bei der Betrachtung der Zytokinwerte der Back-Tableprobe I konnte kein Zusammenhang mit der Kaltischämiezeit festgestellt werden. Daraufhin stellte sich die Frage, ob die Höhe der postoperativen Zytokinwerte des Spenders mit dem Zytokinload der betreffenden Nieren im Perfusat I korreliert. Bei der Betrachtung der Korrelationskoeffizienten kann man erkennen, dass Interleukin-8, TNF und Interleukin-2-Rezeptor eine hohe Korrelation aufweisen. Somit sind die Ausprägungen im Backtableperfusat I dieser Zytokine abhängig von der Höhe der postoperativen Spenderwerte.

Hingegen ist eine positive Aussage über die Korrelation zwischen dem postoperativen Wert und der Backtableprobe I für Interleukin-6 nicht zutreffen

## 6 Schlussfolgerung

In dieser Arbeit wurden Nierenspender und deren gespendete Organe auf ihre Zytokinbelastung hin untersucht. Weiterhin sollten die Auswirkungen einer Nachperfusion der jeweiligen Spendernieren untersucht werden. Es wurden die Werte von vier verschiedenen Zytokinen betrachtet. Diese sind im einzelnen: Interleukin-6, Interleukin-8, Interleukin-2-R, TNF-Alpha.

Zu diesem Zweck wurden von den Organspendern jeweils eine Vollblutprobe präoperativ und unmittelbar vor Explantation der Organe entnommen. Die Untersuchung der gespendeten Nieren erfolgte durch die Betrachtung der Backtable-Perfusate. Dazu wurde jede Niere mit 250 ml Perfusionslösung nachgespült und jeweils eine Probe am Beginn und am Ende der Perfusion auf ihre Zytokinbelastung hin untersucht. Es wurden demnach jeweils 4 Proben betrachtet (praeOP, postOP ,Backtable-I ,Backtable-II).

Schon in der Ausprägung der praeoperativen Zytokinwerte von Lebendspendern im Vergleich zu Todspendern konnte ein hoch signifikanter Unterschied beobachtet werden. Dieser Trend setzte sich bei der Betrachtung der postoperativen Werte weiter fort. Auch die intraoperativen Zytokinwertveränderungen waren einerseits signifikant und unterschieden sich andererseits auch zwischen Lebend- und Tod-Spendern.

Eine Abhängigkeit der Spender-Zytokinwerte von begleitenden Rahmenbedingungen -, wie die Explantationsdauer, Todesursache des Spenders, Art der Organspende (Multi/Solo) oder die Intensivaufenthaltsdauer des Spenders vor der Explantation,- konnte nicht bestätigt werden.

Bei der Betrachtung der Backtable-Perfusate konnte gezeigt werden, dass es möglich ist den Zytokinload einer Spender Niere signifikant zu senken. Dagegen war es nicht möglich die Zytokinwerte von Todspenden auf das Niveau von Lebendspenden durch eine Backtable-Perfusion zu senken. Auch konnte gezeigt werden, dass die Höhe des Zytokinloads im I. Perfusat von der postoperativen

Zytokinbelastung des Spenders abhängt. Einflussgrößen wie die Dauer der Kaltischämiezeit hatten hingegen keine Auswirkungen auf die Zytokinbelastung im Spenderorgan.

Bei der Betrachtung der Auswirkungen der Back-Table-Perfusion wurden die Studiengruppen (Tod-Spenden) mit einer Vergleichsgruppen, die keine Backtable-Perfusion erhalten hatte, zusammengebracht. Als Bewertungspunkte der Transplantatfunktionen wurden die Anzahl der postoperativen Dialysesitzungen, die Dauer bis zur eigenen Harnausscheidung und das Auftreten einer akuten Tubulusnekrose und einer Abstoßungskrise betrachtet.

Hierbei konnte festgestellt werden, dass kein eindeutiger Benefiz zu erkennen war. Es wurde lediglich ein Unterschied in der Häufigkeit von ATN und akuten Abstoßungsreaktionen festgestellt, der statistisch nur schwer zu halten war.

In dieser Arbeit konnten demnach die Unterschiede zwischen lebendgespendeten Nieren und todgespendeten Nieren anhand unterschiedlicher Zytokinausprägungen, sowohl der Organspender als auch der einzelnen Nieren belegt werden. Es war weiter möglich die Auswirkungen einer Nachperfusion zu beleuchten.

## 7 Lebenslauf

### Angaben zur Person

Name:	Thomas Zerkaulen
Geburtstag:	06 - 04 - 1973
Geburtsort:	München
Familienstand:	ledig

### Ausbildung

1979 – 1980	Besuch der 1. Klasse in Karlsruhe
1980 – 1983	Besuch der Grundschule Gilching
1983 – 1993	Besuch des Gymnasium Gilching
August 1993	Abitur
1993 – 1994	Zivildienst
Mai 1995	Beginn des Studiums der Humanmedizin
März 1997	Physikum
März 1998	1. Staatsexamen
August 2000	2. Staatsexamen
Oktober 2001	3. Staatsexamen

## 8 Anhang

Als Anhang werden die statistischen Ausgaben unter SPSS gelistet. Die Reihenfolge entspricht der Folge der Fragestellung:

### 8.1 Frage 1

#### Todesursache

##### Gruppenstatistiken

	TOD	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
IL6PRAE	SAB	14	800,5357	462,0805	123,4962
	SHT	15	577,9800	509,0321	131,4315
IL8PRAE	SAB	14	71,4286	118,1339	31,5726
	SHT	15	65,9267	84,4986	21,8175
TNFPRAE	SAB	14	18,6286	6,0259	1,6105
	SHT	15	26,3200	30,8990	7,9781
IL2RPRAE	SAB	14	867,2357	477,4659	127,6081
	SHT	15	875,4667	641,7118	165,6893

##### Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test		T-Test für die Mittelwertgleichheit			Mittlere Differenz	Standardfehler
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-seitig)		
IL6PRAE	Vari. gleich	,095	,760	1,230	27	,229	222,5557	180,9716
	Vari. nicht gleich			1,234	26,983	,228	222,5557	180,3484
IL8PRAE	Vari. gleich	,200	,658	,145	27	,886	5,5019	37,9364
	Vari. nicht gleich			,143	23,421	,887	5,5019	38,3775
TNFPRAE	Vari. gleich	2,702	,112	-,914	27	,369	-7,6914	8,4130
	Vari. nicht gleich			-,945	15,137	,359	-7,6914	8,1390
IL2RPRAE	Vari. gleich	1,714	,202	-,039	27	,969	-8,2310	211,2925
	Vari. nicht gleich			-,039	25,770	,969	-8,2310	209,1334

Art der Organentnahme

Gruppenstatistiken

	ART	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
IL6POST	Mono	9	1467,7111	2472,4600	824,1533
	Multi	21	886,6714	564,8905	123,2692
IL8POST	Mono	9	132,8111	240,2452	80,0817
	Multi	21	121,4333	124,2697	27,1179
TNFPOST	Mono	9	29,9111	30,1641	10,0547
	Multi	21	21,1571	6,9519	1,5170
IL2RPOST	Mono	9	824,4444	574,3664	191,4555
	Multi	21	660,7143	427,1793	93,2182

Test bei unabhängigen Stichproben

		LeveneTest		T-Test für die Mittelwertgleichheit		Mittlere Differenz	Standardfehler
		F	Sig.	T	df		
IL6POST	Var. gleich	5,493	,026	1,038	28	,308	581,0397
	Var. nicht gleich			,697	8,360	,505	581,0397
IL8POST	Var. gleich	3,792	,062	,172	28	,865	11,3778
	Var. nicht gleich			,135	9,888	,896	11,3778
TNFPOST	Var. gleich	5,572	,025	1,280	28	,211	8,7540
	Var. nicht gleich			,861	8,367	,413	8,7540
IL2RPOST	Var. gleich	2,042	,164	,867	28	,393	163,7302
	Var. nicht gleich			,769	11,973	,457	163,7302

Liegedauer

Korrelationen

			LIEG	IL6PRAE	IL8PRAE	TNFPRAE	IL2RPRAE
Spearman-Rho	LIEG	Korrel.koef.	1,000	,199	-,222	-,023	,099
		Sig. (2-seitig)		,292	,239	,903	,605
		N	30	30	30	30	30

\*\* Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

OP Dauer

Korrelationen

			KA6PO	KA8PO	KATNFPO	KA2PO	OPD
Spearman-Rho	OPD	Korrel.koef.	-,169	-,052	,238	,075	1,000
		Sig. (2-seitig)	,372	,787	,205	,693	
		N	30	30	30	30	45

\*\* Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

\* Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant (2-seitig).

Korrelationen

			OPD	LE 6 PO	LE 8 PO	LE TNF PO	LE 2 PO
Spearman-Rho	OPD	Korrel.koef.	1,000	,410	-,271	-,364	-,309
		Sig. (2-seitig)		,129	,328	,183	,262
		N	45	15	15	15	15

## 8.2 Frage 2

### Vergleich Kadaver -, Lebendspender

#### Ränge

	GRII	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
IL6PRAE	Todspender	30	30,50	915,00
	Lebendspender	15	8,00	120,00
	Gesamt	45		
IL6POST	Todspender	30	30,43	913,00
	Lebendspender	15	8,13	122,00
	Gesamt	45		
IL8PRAE	Todspender	30	30,30	909,00
	Lebendspender	15	8,40	126,00
	Gesamt	45		
IL8POST	Todspender	30	30,40	912,00
	Lebendspender	15	8,20	123,00
	Gesamt	45		
TNFPRAE	Todspender	30	29,43	883,00
	Lebendspender	15	10,13	152,00
	Gesamt	45		
TNFPOST	Todspender	30	29,37	881,00
	Lebendspender	15	10,27	154,00
	Gesamt	45		
IL2RPRAE	Todspender	30	28,92	867,50
	Lebendspender	15	11,17	167,50
	Gesamt	45		
IL2RPOST	Todspender	30	28,85	865,50
	Lebendspender	15	11,30	169,50
	Gesamt	45		

#### Statistik für Test

	IL6PRAE	IL6POST	IL8PRAE	IL8POST	TNFPRAE	TNFPOST	IL2RPRAE	IL2RPOST
U-Test	,000	2,000	6,000	3,000	32,000	34,000	47,500	49,500
W-Test	120,000	122,000	126,000	123,000	152,000	154,000	167,500	169,500
Z	-5,469	-5,370	-5,312	-5,351	-4,647	-4,599	-4,274	-4,226
Asy. Sig. (2-seitig)	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000

a Gruppenvariable: GRII

Vergleich prae -, post – Werte

Ränge

		N	Mittlerer Rang	Rangsumme
KA6PO - KA6PR	Negative Ränge	1	6,00	6,00
	Positive Ränge	28	15,32	429,00
	Bindungen	1		
	Gesamt	30		
LE 6 PO - LE 6PR	Negative Ränge	0	,00	,00
	Positive Ränge	15	8,00	120,00
	Bindungen	0		
	Gesamt	15		
KA8PO - KA8PR	Negative Ränge	1	8,50	8,50
	Positive Ränge	29	15,74	456,50
	Bindungen	0		
	Gesamt	30		
LE 8 PO - LE 8 PR	Negative Ränge	1	8,50	8,50
	Positive Ränge	8	4,56	36,50
	Bindungen	6		
	Gesamt	15		
KATNFPO - KATNFPR	Negative Ränge	14	13,04	182,50
	Positive Ränge	16	17,66	282,50
	Bindungen	0		
	Gesamt	30		
LETNFPO - LETNFPR	Negative Ränge	4	6,13	24,50
	Positive Ränge	11	8,68	95,50
	Bindungen	0		
	Gesamt	15		
KA2PO - KA2PR	Negative Ränge	26	16,37	425,50
	Positive Ränge	4	9,88	39,50
	Bindungen	0		
	Gesamt	30		
LE 2 PO - LE 2 PR	Negative Ränge	12	9,50	114,00
	Positive Ränge	3	2,00	6,00
	Bindungen	0		
	Gesamt	15		

Statistik für Test

	KA6PO KA6PR	LE 6 PO LE 6PR	KA8PO KA8PR	LE 8 PO LE 8 PR	KATNFPO KATNFPR	LETNFPO LETNFPR	KA2PO KA2PR	LE 2 PO LE 2 PR
Signifikanz (2-seitig)	,000	,001	,000	,097	,304	,044	,000	,002

### 8.3 Frage 3

#### Zytokinsenkung durch Backtable - Perfusion

##### Ränge

		N	Mittlerer Rang	Rangsumme
KA6II - KA6I	Negative Ränge	33	17,94	592,00
	Positive Ränge	1	3,00	3,00
	Bindungen	0		
	Gesamt	34		
LE 6 II - LE 6 I	Negative Ränge	14	8,43	118,00
	Positive Ränge	1	2,00	2,00
	Bindungen	0		
	Gesamt	15		
KA8II - KA8I	Negative Ränge	34	17,50	595,00
	Positive Ränge	0	,00	,00
	Bindungen	0		
	Gesamt	34		
LE 8 II - LE 8 I	Negative Ränge	12	8,67	104,00
	Positive Ränge	3	5,33	16,00
	Bindungen	0		
	Gesamt	15		
KATNFII - KATNFI	Negative Ränge	29	18,90	548,00
	Positive Ränge	5	9,40	47,00
	Bindungen	0		
	Gesamt	34		
le tnf II - LE TNF I	Negative Ränge	4	6,00	24,00
	Positive Ränge	11	8,73	96,00
	Bindungen	0		
	Gesamt	15		
KA2II - KA2I	Negative Ränge	32	16,50	528,00
	Positive Ränge	0	,00	,00
	Bindungen	2		
	Gesamt	34		
LE 2 II - LE 2 I	Negative Ränge	14	7,50	105,00
	Positive Ränge	0	,00	,00
	Bindungen	1		
	Gesamt	15		

##### Statistik für Test

	KA6II - KA6I	LE 6 II - LE 6 I	KA8II - KA8I	LE 8 II - LE 8 I	KATNFII - KATNFI	LE TNF II - LE TNF I	KA2II - KA2I	LE 2 II - LE 2 I
Z	-5,035	-3,294	-5,086	-2,500	-4,283	-2,045	-4,937	-3,296
As.Sig. (2-seitig)	,000	,001	,000	,012	,000	,041	,000	,001

Vergleich der Proben II von Lebend -, Todspender

Gruppenstatistiken

	GRI	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
IL6II	1,00	34	174,7088	254,8369	43,7042
	2,00	15	34,7133	35,3387	9,1244
TNFII	1,00	34	30,7912	14,6408	2,5109
	2,00	15	14,2200	3,9882	1,0298
IL8II	1,00	34	85,3206	139,2563	23,8823
	2,00	15	17,7733	8,7789	2,2667
IL2RII	1,00	34	58,8912	13,7871	2,3645
	2,00	15	50,0000	,0000	,0000

Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene Test		T-Test für Mittelwert		Sig. (2-seitig)	Mit.-Differenz	Standardfehler
		F	Sig.	T	df			
IL6II	Var. gleich	10,730	,002	2,107	47	,041	139,9955	66,4580
	Var. nicht gleich			3,136	35,779	,003	139,9955	44,6465
TNFII	Var. gleich	11,654	,001	4,291	47	,000	16,5712	3,8620
	Var. nicht gleich			6,106	42,219	,000	16,5712	2,7138
IL8II	Var. gleich	8,333	,006	1,866	47	,068	67,5473	36,1994
	Var. nicht gleich			2,816	33,591	,008	67,5473	23,9896
IL2RII	Var. gleich	34,415	,000	2,483	47	,017	8,8912	3,5809
	Var. nicht gleich			3,760	33,000	,001	8,8912	2,3645

**8.4 Frage 4**

Dauer bis Urinproduktion / Anzahl der Dialysen

	SPENDER	N	Mean Rank	Sum of Ranks
DAYDROP	1	34	173,59	5902,00
Cadaverspender	2	265	146,97	38948,00
	Total	299		
	SPENDER	N	Mean Rank	Sum of Ranks
DIA	1	34	159,12	5410,00
Cadaverspender	2	265	148,83	39440,00
	Total	299		

Test Statistics

	Cadaverspender	DAYDROP
Mann-Whitney U		3703,000
Wilcoxon W		38948,000
Z		-1,757
Asymp. Sig. (2-tailed)		,079

Test Statistics

	Cadaverspender	NRHD
Mann-Whitney U		4195,000
Wilcoxon W		39440,000
Z		-,916
Asymp. Sig. (2-tailed)		,359

ATN

	CadaverSPENDER	N	Mean Rank
ATN	1	34	173,56
	2	265	146,98
	Total	299	
NLOSS	1	34	134,19
	2	265	152,03
	Total	299	

Test Statistics

	ATN	NLOSS
Chi-Square	5,008	2,734
df	1	1
Asymp. Sig.	,025	,098

a Kruskal Wallis Test  
b Grouping Variable: SPENDER

	LebendSPENDER	N	Mean Rank
ATN	3	13	39,54
	4	59	35,83
	Total	72	
NLOSS	3	13	35,27
	4	59	36,77
	Total	72	

Test Statistics

	ATN	NLOSS
Chi-Square	1,725	,185
df	1	1
Asymp. Sig.	,189	,667

a Kruskal Wallis Test  
b Grouping Variable: SPENDER

**8.5 Frage 5**

Kaltischämiezeiten

Korrelationen

		KIZ	IL6I	IL8I	TNFI	IL2RI	
Spearman-Rho	KIZ	Korrelationskoeffizient	1,000	,193	,110	-,076	-,071
		Sig. (2-seitig)		,273	,535	,669	,691
		N	34	34	34	34	34

\*\* Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

\* Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant (2-seitig).

**8.6 Frage 6**

Post OP Werte

Korrelationen

		IL6I	IL8I	TNFI	IL2RI
IL6POST	Korrelation nach Pearson	,240			
	Signifikanz (2-seitig)	,116			
	N	44			
IL8POST	Korrelation nach Pearson		,860		
	Signifikanz (2-seitig)		,000		
	N		44		

TNFPOST	Korrelation nach Pearson			,828	
	Signifikanz (2-seitig)			,000	
	N			44	
IL2RPOST	Korrelation nach Pearson			,555	
	Signifikanz (2-seitig)			,000	
	N			44	

\*\* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

\* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

## 9 Literaturverzeichnisse

1. Aloisi F,P. Reinke, H.D. Volk: Production of hemolymphopoietic cytokines (IL6, IL8, colony-stimulating-factors)by normal human astrocytes in response to IL1 beta and TNF-alpha, *Journal of immunology* 149, 2358-66 (1992)
2. Amado JA, Lopez-Espadas F, Vasquez-Barquero A: Blood levels of cytokines in brain dead patients: Relationship with circulating hormones and acut phase reactions. *Metabolism*; 44, 812 (1995)
3. Andus T., Heinrich P.C., Castell J.C., Gerok W.: Interleukin-6: ein Schlüsselhormon der Akutphase-Reaktion. *Tsch.med.Wschr.* 114,1710-1716 (1989)
4. Baggilioni M; M.Kimball, O.H. Frazier: Neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils. *Journal of Clinical Investigation* 84, 1045-9 (1989)
5. Beutler B., Krochin N., Milsark IW., Luedke C., Cerami A.: Control of cachectin (TNF) synthesis. *Science* 232,977-980 (1986)
6. Blankenstein T, C.Platzer, K. Asadullah: Tumor suppression after tumor celltargeted tumor necrosis factor alpha gene transfer. *Journal of Experimental medicine* 173, 1047-52 (1991)
7. Bonavida B: Immunomodulatory effect of tumor necrosis factor. *Biotherapy* 3, 127-33 (1991)
8. Boyd GL, Philips MG, Henry ML. Cadaver Donor Management. In: Philips MG ed. *Organ procurement, preservation and distribution in transplantation*. Richmond, VA United Network of Organsharing,: 81; 958 (1996)
9. Buck C., Bundschu J., Gallati H., Bartmann P., Pohlandt : Interleukin-6 a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. *Pediatrics*. 93, 54-58 (1994)
10. Donnahoo KK, Shames BD, Harken AH, Meldrun DR: The role of TNF in renal ischemia-reperfusion injury. *J Urol*; 162 (1): 196-203 (1999 Jun)
11. Durgaprasadarao A., Hansen J., Remick DG., O'Donnell MP, Kasiske BL, Keane WF: Effects of Cyclosporin A, FK 506 and Genistein on IL-6, IL-8 Production and gene expression by human mononuclear cells. *Biochem. Arch.*9,147-155 (1993)
12. Ebert T: The role of cytokines in the therapy of renal cell carcinoma. *Rec. Results in Cancer Research* 126, 113-6 (1993)
13. Eplin-Burnette PK, Wie S., Liu JH., Pericle F., Ussery D., Russell SM., LeonarWJ., Djeu JY.: Expression of IL-2-R-gamma on human monocyts, *Eur. J. Immunol.* 25, 291-294 (1995)

14. Farrar J., Benjamin W., Hilfiker M., Howard M., Farrar W., Fuller-Farrar J.: The biochemistry, biology and role of IL-2 in the induction of cytotoxic T cells and antibody forming B cell responses. *Immunol. Rev.* 63, 129 (1982)
15. Friemel H., R.C. Bone : Interleukin 1-8. *Allerg. Immunol.* 36, 195-208 (1990)
16. Gordon, Guy JR.: The molecules controlling B lymphocytes. *Immunol. Today* 8, 339-344 (1987)
17. Gramm HJ, Zimmermann J, Meinhold H.: Hemodynamic responses to noxious stimuli in brain dead organ donors. *Intensive Care Med* 18, 493 (1992)
18. Hechtmann DH: Intravascular IL8. Inhibitor of polymorphnuclear leukocyte accumulation at sites of acute inflammation. *Journal of Immunology* 147, 883-92 (1991)
19. Heinrich PC, Strassman G.: Interleukin 6 and the akut phase response. *Biochemical journal* 269, 51-66 (1990)
20. Hemar A., Lieb M., Subtil A., DiSanto JP., Dautry-Varsat A.: Endocytosis of beta cain of IL-2-R requires neither IL-2 nor the gamma cain. *Eur. J. Immunol.* 24,1951-1955 (1994)
21. Herinnger P, Leunens V, Dudy T.: Changes in Organ perfusion after brain death in the rat and its relation to circulating catecholamines. *Transplantation* 62, 330 (1996)
22. Hermann F: Interleikin 4 inhibits growth of muliple myelomas by suppressing interleukin 6 expression, *Blood* 78, 2070-4 (1991)
23. Hermes ARMM and Sweep CGJ: Cytokines and the hypotalamic-pituitary-adrenal axis, *Journal of Steroid Biochemistry and Mucleular Biology* 37, 867-71 (1990)
24. Hirano T.: Interleukin-6 and ist relation to inflamation and disease. *Clin. Immun. And Immunopath.* 62, 60-65 (1992)
25. Horri Y, Fischer E.: Involvement of Interleukin-6 in mesangial proliferativ glomerulonephritis, *ournal of Immunology* 143, 3949-55 (1989)
26. Jacob CO, Fischer J.C.: Cytokines and anti-cytokines. *Curr. Opin. Immunol.* 2,249-257 (1989)
27. Ko YC, Mukaida N, Ishiyama S, Tokue A, Kawai T, Matsushima K, Kasahara T: Elevated IL-8 levels in the urine of patients with urinary Tract infection. *Infec. Immun.* 61,1307-1314 (1993)
28. Light G.A., Kowalski F., Gage F., Callender C.O., Sasaki T.M.: *Transplantation Proceeding* 27/5, 2962-2964 (1995)
29. Malkovsky M., Loveland B., North M., Asherson GL., Gao L., Ward P., Fiers W.: Recombinant IL-2 directly augments the cytotoxicity of human monocytes. *Natur* 325,262-265 (1987)

30. Morris SW, Volk H.D.: Assignment of the genes encoding human interleukin-8 receptor typ 1 and 2 and an interleukin-8 receptor pseudogene to chromosom 2q35. *Gemonics* 14, 685-91 (1992)
31. Novitzky D, Cooper DKC, Reichart B.: Haemodynamic and metabolic respnse to hormonal therapy in brain–dead potential organ donors. *Transplantation* 43, 852 (1987)
32. Peichl P: Presence of NAP-1/IL8 in synovial fluids indicates a possible pathogenic role in rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Immunology* 34, 333-9 (1991)
33. Perez C: A nonsecretable cell surface mutant of TNF kills by cell-to-cell contact. *Cell* 63, 251-8 (1990)
34. Pratschke J.,m.J. Wilhelm, M. Basker, D.K.C. Cooper, W.W. Hancock, N.L. Tilney: Brain death and it's influence on donor organ quality and outcome after transplantation, *Transplantation* 67/3, 343-348 (1999)
35. Reed MH., Shapiro ME., Strom TB., Milford EL., Carpenter CB., Weinberg DS., Reimann KA., Letvin NL., Waldmann., Kirkmann RL.: Prolongation of primat renal allograft survival by anti-tac, an anti-human IL-2 receptor monoclonal antibody. *Transplantation* 47,55-59 (1989)
36. Roeb,E., S Rose-John: Zytokine: Biologie und therapeutische Relevanz. *Dtsch. Med. Wschr.*121, 803-809 (1996)
37. Schooltink H: Structural and functional studies on the human hepatic interleukin-6 receptor. Molecular cloning and overexpression in HepG2 cells. *Biochemical Journal* 277, 659-64 (1991)
38. Schröder JM, D ándrea A, Fisher RA, First RM: Generation of NAP-1 and related peptides in psoriasis and other inflammatory skin diseases. *Cytokines* 4, 54-76 (1992)
39. Schroeder JM & Christophers E., Fisher RA, First RM, Muth KL,:Secretion of novel and homologous neutrophil-activating peptides by LPS-stimulated human endothelial cells. *J. Immunol.* 142,244-251 (1989)
40. Schroeder TJ., Helling T., McKenna RM, Rush D., Jeffrey JR, Brewer B., Martin LA, Traylor D., Fisher RA, First RM, Muth KL: A multicenter study to evaluate a novel assay for quantitation of soluble IL-2-R in renal transplant recipients.*Transplantation* 53,34-40 (1992)
41. Steiner G., Zlabinger G., Karamehiee J., Pohanka E, Kovarik J., Woloszczuk G.: Interferon gamma, Neopterin and interleukin-2-receptor levels in the serum of kidney transplant recepients. *Transplantation Proc.* 22, 1857-1858 (1997)
42. Sugamura K.: Structure and function of IL-2-R subunits. *Hum. Cell* 7, 1-5 (1994)

43. Tagushchi T and Sohmura Y: Clinical studys with TNF. *Biotherapy* 3, 177-86 (1991)
44. Taniguchi T and Minami Y: The IL2 receptor system: a current overview. *Cell* 73, 5-8 (1993)
45. Tarasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW.; High survival rates of kidney transplants from spousal and living related donors. *N Engl J Med* 333, 333 (1995)
46. Tartaglia LA: The two different receptors for tumor necrosis factor mediate distinct cellular response. *Proceedings of the National Academy of Science (USA)* 88, 9292-6 (1991)
47. Paul I.Terasaki, David W. Gjertson, J. Michael Cecka, Steve Takemoto, Yong Won Cho. *Clin.Transplantation*: 11, 366-372 (1997)
48. Tullius SG, Tiney NL, Both alloantigen–dependent and–independent factors influence chronic allograft rejection. *Transplantation* 59, 313 (1995)
49. Vandebroecke C., Caillat-Zucman S., Legendre C., Noel L.-H., Kreis H., Woodrow D., Bach .-F., Tovej M.G.: Differential in situ expression of cytokines in renal allograft rejection. *Transplantation* 51, 602-609 (1991)
50. Wicher J.T., Evans S.W.: Cytokines in disease. *Clin. Chem.* 26, 1269-1281 (1990)
51. Woloski B. M. R. N. J., Smith e. m., Meyer III W. J., Fuller G. M., Balock J. E.:Corticotrophic-releasing activity of monokines. *Science* 230, 1035-1040 (1985)
52. Yoshimura T: Neutrophil attractant protein-1(NAP-2)(interleukin-8). *American Journal of Respir. Cell. Mol. Biol.* 2, 479-86 (1990)
53. Zhai QH, Futrell N, Chen FJ. Gene expression of IL–10 in relationship to TNF–alpha, IL–1 beta and IL–2 in the rat brain following middle cerebral artery occlusion. *J Neurol Sci* 25, 119 (1997)