

DER ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ORGANQUALITÄT UND SPENDERSPEZIFISCHEN RISIKOFAKTOREN

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia legendi für das Fach Chirurgie

an der
Charité
Medizinische Fakultät
der
Humboldt-Universität
Berlin

vorgelegt von
Dr.med. Johann Pratschke
geboren am 04.08.1965 in Zagreb

Präsident: Prof.Dr. rer.nat. J.Mlynek
Dekan: Prof.Dr.med.J.Dudenhausen

eingereicht am: 20.08.2002
Gutachter: 1. Prof. D. Candinas
2. Prof. K-W. Jauch

Tage des öffentlich-wissenschaftlichen Vortrages: 26.06.2003

Inhaltsverzeichnis:

1. **Einleitung**
 - 1.1 Die akute Abstossung
 - 1.2 Die chronische Abstossung
 - 1.3 Risikofaktoren der Transplantatdysfunktion
 - 1.3.1 Alloantigen-unabhängige Faktoren
 - 1.3.2 Alloantigen-abhängige Faktoren
 - 1.4 Zusammenhang zwischen Alloantigen-unabhängigen und Alloantigen-abhängigen Risikofaktoren
 - 1.5 Spender-spezifische Risikofaktoren - Hirntod des Organspenders
 - 1.6 Verbesserung der Organqualität durch immunmodulatorische Ansätze

1. **Eigene Arbeiten**
 - 2.1 Analyse des Modells des Hirntodes
 - 2.2 Definition der Organqualität nach Hirntodinduktion
 - 2.3 Einfluss des Spender-Hirntodes auf Ischämie/Reperfusionsschaden und akute Rejektionen nach Transplantation
 - 2.4 Einfluss des Spender-Hirntodes auf die chronische Transplantatdysfunktion
 - 2.5 Einfluss weiterer Risikofaktoren auf die Transplantatfunktion
 - 2.6 Therapeutische Ansätze zur Verbesserung der Transplantatqualität

2. **Relevante Originalarbeiten**
 - 3.1 Analyse des Modells des Hirntodes
 - 3.2 Definition der Organqualität nach Hirntodinduktion
 - 3.3 Einfluss des Spender-Hirntodes auf Ischämie/Reperfusionsschaden und akute Rejektionen nach Transplantation
 - 3.4 Einfluss des Spender-Hirntodes auf die chronische Transplantatdysfunktion
 - 3.5 Einfluss weiterer Risikofaktoren auf die Transplantatfunktion
 - 3.6 Therapeutische Ansätze zur Verbesserung der Transplantatqualität

3. **Diskussion**
 - 4.1 Analyse des Modells der Hirntodinduktion
 - 4.2 Definition der Organqualität nach Hirntodinduktion
 - 4.3 Einfluss des Hirntodes auf die Transplantatfunktion
 - 4.4 Einfluss weiterer Risikofaktoren auf die Transplantatfunktion
 - 4.5 Therapeutische Ansätze zur Verbesserung der Transplantatqualität

4. **Zusammenfassung**
5. **Abkürzungsverzeichnis**
6. **Tierversuchsgenehmigungen**
7. **Danksagungen**
8. **Literaturverzeichnis**

1. Einleitung

Während der letzten 30 Jahre hat sich die Organtransplantation zu einer etablierten therapeutischen Methode entwickelt. Die ersten experimentellen Nierentransplantationen datieren in das Jahr 1902 zurück (1). CARREL und GUTHRIE transplantierten 1905 Hundeherzen und -nieren zur Untersuchung und Verbesserung von Gefäßnahttechniken (2). Der Grundstein zur Entwicklung der klinischen Organtransplantation wurde 1954 von JOSEPH MURRAY mit der ersten Nierentransplantation zwischen eineiigen Zwillingen gelegt (3;4). Dieser Pioniertat, die 30 Jahre später mit der Verleihung des Nobelpreises für Medizin honoriert wurde, folgten 1967 die erste Lebertransplantation durch THOMAS STARZL (5) und die erste Herztransplantation durch CHRISTIAN BARNARD (6). Aktuell stellt die Organtransplantation bei zunehmend weiter gefassten Indikationsstellungen die Methode der Wahl bei irreversiblen, terminalen Organschäden dar. Die Organempfänger erreichen in der überwiegenden Mehrheit eine sehr gute Lebensqualität und können meist mit minimalen Einschränkungen ihr Leben fortführen. In etablierten Zentren beträgt die 1-Jahresüberlebenszeit nach Organersatz bis zu 98% (7). Neben der Entwicklung chirurgischer Operationstechniken sowie verbesserter postoperativer Behandlungskonzepte ist es vor allem der Entdeckung potenter Immunsuppressiva zu verdanken, dass die Organtransplantation erfolgreich in der klinischen Routine etabliert werden konnte. Dabei stellt die Einführung von Cyclosporin A Ende der 70er Jahre einen der Meilensteine für die schnelle Zunahme erfolgreicher Organtransplantationen in den darauf folgenden Jahren dar. Eine engmaschige ambulante Überwachung transplantierte Patienten in Verbindung mit einer differenzierten Anwendung aktuell verfügbarer Immunsuppressiva trugen zu weiteren Fortschritten der Organtransplantation bei. 2001 wurden im Versorgungsgebiet von Eurotransplant 3421 Nieren-, 1108 Leber-, 602 Herz- und 273 Lungentransplantationen durchgeführt (8).

Zur Organtransplantation werden in erster Linie Leichentransplantate, d.h. Organe hirntoter Spender verwendet. Bedingt durch Spender- und Organmangel sistiert die Anzahl der jährlich vorgenommenen Transplantationen in den letzten

Jahren und ist in letzter Zeit tendenziell sogar leicht rückläufig (8). Die Diskrepanz zwischen verfügbaren Organen und dem Bedarf an Transplantaten führt zu einer zunehmenden Mortalität auf der Warteliste. Da einerseits die Indikationen zur Transplantation auf Grund einer zunehmenden Akzeptanz in den letzten Jahren großzügiger gestellt werden, andererseits jedoch die Bereitschaft zur Organspende in der Bevölkerung unvermindert niedrig ist, wird die Diskrepanz zwischen Transplantatangeboten und Patienten auf der Warteliste zunehmend größer. Die Entwicklung der Organspendebereitschaft in der Bevölkerung lässt nicht erwarten, dass sich die Situation des Organmangels in absehbarer Zukunft verbessern wird. Lebendspenden von Nieren und zunehmend auch von Lebern erreichen zumindest im Gebiet von Eurotransplant aktuell keine ausreichend hohe Frequenz, um das Risiko des "Todes auf der Warteliste" zu reduzieren.

Akute Abstossungsreaktionen nach Organtransplantation sind auf Grund verbesserter Immunsuppressiva gut und effizient zu beherrschen; ein wichtiges Problem der klinischen Organtransplantation stellt jedoch immer noch die hohe Organverlustrate auf Grund der chronischen Transplantatdysfunktion dar (9;10). Die pathophysiologischen Mechanismen der chronischen Organdysfunktion nach Transplantation werden zunehmend besser verstanden. Hierbei zeigt sich, dass der Langzeitverlauf entscheidend von der Qualität des Spenderorgans beeinflusst wird. Weiterhin tragen die unbefriedigenden Langzeitergebnisse nach Transplantation durch die Notwendigkeit von Retransplantationen signifikant zur bestehenden Organknappheit bei. Als Reaktion auf fehlende Organressourcen werden zunehmend in ihrer Qualität suboptimale Organe akzeptiert (11). Mit steigendem Alter der Organspender verlagert sich die Ursache des Spenderhirntodes von traumatischen Schädel-Hirn-Verletzungen zu altersbedingten Erkrankungen wie hypertensiven zerebralen Insulten, Subarachnoidalblutungen oder ischämischen Hirninfarkten (7;11).

Neuere Untersuchungen belegen, dass ein Zusammenhang zwischen der Immunogenität des Spenderorgans und der Organfunktion nach Transplantation besteht. Unzureichend definiert sind jedoch die Einflüsse Spender-spezifischer

Risikofaktoren; insbesondere sind die Auswirkungen der Hirntodursache und Spender-assoziiertes Erkrankungen auf die Transplantatfunktion ungeklärt.

1.1 Die akute Rejektion

Sir Peter MEDAWAR und seine Mitarbeiter beschäftigten sich erstmals systematisch mit den Problemen der Organtransplantation (12). Es zeigte sich, dass sich das Problem des Organverlusts auf eine "Entzündungsreaktion" zurückführen lässt. MEDAWAR prägte in diesem Zusammenhang erstmals den Begriff „Abstoßungsreaktion" (13).

Schon frühzeitig wurde beobachtet, dass Abstoßungsreaktionen nur auftraten, wenn Organe zwischen genetisch verschiedenen Individuen transplantiert wurden (14). Auto- und isogene Transplantationen wurden nicht mit einer Entzündungsreaktion beantwortet und führten zur Organakzeptanz. Untersuchungen von GORER und SNELL demonstrierten, dass das Auftreten von Interaktionen zwischen Empfängerorganismus und Spenderorgan vor allem auf eine genetische Differenz und die damit verbundenen unterschiedlichen zellulären Oberflächenantigene zurückzuführen ist und somit entscheidend vom Grad der genetischen Verwandtschaft zwischen Empfänger und Spender abhängt (15).

Die immunologische Reaktion auf Fremdgewebe, allogene oder xenogene, stützt sich hauptsächlich auf ein zellvermitteltes Geschehen. Neben diesem Abstoßungsmechanismus scheint die humorale Immunantwort zumindest bei der allogenen Abstoßungsreaktion von untergeordneter Bedeutung zu sein.

Die Spezifität der Antigene, gegen die sich eine Transplantatabstoßung richtet, ist genetisch verankert. Unterschieden werden Klasse I, II und Klasse III MHC Gene bzw. Antigene. Klasse I Antigene sind vor allem auf kernhaltigen Zellen lokalisiert und gelten als die klassischen Transplantationsantigene, die zur Eigenerkennung, aber auch als Zielstruktur bei der Fremderkennung dienen. MHC Antigene der Klasse II findet man auf vielen Zellen des Immunsystems, wo sie als Oberflächenproteine der Zusammenarbeit und Regulation der Immunantwort dienen und durch verschiedene Zytokine zur Expression stimuliert

werden. Die Rolle von Klasse III Antigenen im Rahmen der Transplantatabstossung ist bisher noch unbekannt.

MHC sind wegen ihrer überragenden Bedeutung bei immunologischen Erkennungs- und Abwehrmechanismen als zelluläre Oberflächenmarker weit verbreitet. So spielen sie bei der Eigenerkennung, als Kofaktor bei der Antigenpräsentation und bei der Lokalisierung von Antigenen auf antigenpräsentierenden Zellen (APC) eine entscheidende Rolle. Zellvermittelte Effektormechanismen basieren auf der Erkennung eines Antigens durch einen immunkompetenten T-Lymphozyten. Das Fremdanigen wird zusammen mit dem eigenen MHC durch APC dem immunkompetenten Lymphozyten präsentiert; es kommt im Rahmen der Antigenerkennung zur kostimulatorischen Aktivierung des Leukozyten. T-Zellklone, die kompetent für Eigen-MHC und Fremdproteinerkennung sind, sind in der Lage, Spender-MHC ohne weitere Fremdproteinpräsentation zu identifizieren (16). Durch monoklonale Antikörper, die sich gegen diesen spezifischen, zur Reaktion befähigten T-Zellrezeptor richten (TCR), läßt sich sowohl die Fremd- als auch die Eigenerkennung von MHC blockieren. Aus diesen Sachverhalten wird ersichtlich, dass zur Identifizierung eines Fremd-MHC keine weitere Fremdproteinpräsentation nötig ist (17).

Als Initiator der Immunantwort gelten, neben MHC II-tragenden Endothelzellen (18), vor allem die im Interstitium verbliebenen dendritischen Zellen. Neben „Passengerlymphozyten“ sind humane Endothelzellen zur Sekretion von Kofaktoren und zur Aktivierung von alloreaktiven Lymphozyten in der Lage und tragen somit entscheidend zur Initialisierung der Abstossungsreaktion bei (19). Ist die initiale Fremderkennung des transplantierten Organs erfolgt, schließt sich ein durch gegenseitige Aktivierung gekennzeichnetes Circulus vitiosus an, der letztendlich in der Transplantatzerstörung endet.

Nach Aktivierung durch ein spezifisches Antigen erfolgt bei initial aktivierten Lymphozyten die Sekretion von verschiedenen Zytokinen und Interleukinen. Durch Sekretion von Tumornekrosefaktor (TNF α) und Lymphotoxinen kommt es zur unspezifischen Stimulation von neutrophilen Lymphozyten und

Endothelzellen mit anschließender Expression von Adhäsionsmolekülen. Vor allem die Sekretion von Interleukin 2 (IL-2) und Interferon gamma (IFN γ) spielt in der Erkennungs- und Aktivierungsphase eine entscheidende Rolle (20). So erfolgt eine massive Induktion der MHC Expression sowohl auf Endothelzellen als auch auf Parenchymzellen durch IFN γ (21). Durch die Dichteerhöhung und vermehrte Expression von MHC auf Transplantatzellen wird die Immunogenität des Transplantates potenziert und die weitere zelluläre Immunantwort getriggert (22). Die Tatsache, dass eine Korrelation zwischen der MHC-Dichte und dem histologischen Abstossungsgrad besteht, legt die Vermutung nahe, dass die Erhöhung der Transplantatimmunogenität durch MHC Expression ein wichtiger Aspekt bei der Transplantatabstossung ist (23;24). Einen weiteren wichtigen Schritt im immunologischen Aktivierungsprozess stellt, neben der Aktivierung von CD3/CD4-positiven T- und CD2/CD8-positiven B-Lymphozyten durch IL-2 und IL-6, die Stimulation von NK-Zellen dar. Neben der Aktivierung und Fokussierung der unspezifischen Effektorzellen wird durch die Zytokinsekretion die Konvertierung der immunkompetenten Lymphozyten in Antigen-spezifisch geprägte Zellen vermittelt. CD3/CD4-positive Zellen rekrutieren und aktivieren lymphokinvermittelte Monozyten und Lymphozyten, welche als Makrophagen zytostatisch, zum Teil auch zytolytisch, die Gewebeerstörung des Transplantates initiieren (25). Durch die anfängliche Aktivierung differenzieren sich Lymphozytenpopulationen zu zytotoxischen T-Lymphozyten und schädigen durch direkte Lyse Endothel- und Parenchymzellen (26). Einen weiteren Mechanismus stellt die unspezifische Aktivierung von NK-Zellen dar. Das histologische Korrelat der zellulären Abstossungsreaktion erkennt man frühzeitig an der zellulären Infiltration im Transplantat bzw. am Ort der Antigenpräsenz.

Die Haupteffektorfunktion der humoralen Immunität wird durch Antikörper geleistet, welche durch B-Lymphozyten produziert und sezerniert werden. In der klinischen Transplantation spielen Antikörper bei der chronischen Abstossung und speziell bei der wachsenden Anzahl von Patienten, die durch Transplantationen gegen MHC Antigene sensibilisiert sind, eine zunehmend größere Rolle. Antigene sind in Abwesenheit von T-Lymphozyten nicht in der

Lage, eine Antikörperantwort zu induzieren. Für die Aktivierung von B-Zellen bzw. die Umwandlung in antikörpersezernierende Plasmazellen ist neben der Antigenexposition auch eine Stimulierung der B-Zelle durch T-Zell-vermittelte Zytokine erforderlich. In diesem Zusammenhang sind als Sekretionsprodukte von T-Helferzellen IL-2, IL-4 und IL-5 als Differenzierungsstimuli von Bedeutung. IL-6, das außer von Makrophagen auch von vielen anderen Zelltypen sezerniert wird, spielt als Wachstumsfaktor für ausdifferenzierte antikörpersezernierende Plasmazellen eine Rolle. B-Zellen sind sowohl zur Verarbeitung von Antigenen als auch zur direkten Antigenpräsentation gegenüber T-Zellen in der Lage (16).

Spezifische Antikörper können an ihren Zielorten eine Reihe von Effektorleistungen zur Zerstörung der Zielzelle einleiten. So sind sowohl IgM als auch IgG in der Lage, durch Komplementaktivierung die Zielzelle durch Zytolyse zu eliminieren. Als Folge der direkten Komplementaktivierung durch Antikörper kommt es zur Formation einer lipophilen Struktur, dem „membrane attack complex“ (MAC), der zur direkten osmotischen Lyse der Zielzelle in der Lage ist. Selbst wenn durch Aktivierung des MAC keine direkte Zellzytolyse erreicht wird, triggert der MAC die Bildung von Produkten des Arachidonsäurestoffwechsels und von interleukinassoziierten Zytokinen (27). Einen weiteren Abwehrmechanismus stellt die Opsonisation der Zielzelle durch Antikörper und die anschließende Phagozytose durch Leukozyten dar. So wird durch diesen Mechanismus den verschiedenen Effektorzellen, wie NK-Zellen und mononukleären Phagozyten, der Zugang und die anschließende Elimination der Zielzelle ermöglicht. Neben der antigenspezifischen Abwehrfunktion kann auch eine unspezifische Komplementaktivierung zur Entstehung proteolytischer Fragmente am Komplementsystem beteiligter Proteine führen (28). Diese verursachen in den betroffenen Gewebearealen eine Chemotaxis von Mastzellen und Neutrophilen mit nachfolgenden Entzündungsreaktionen.

Die primäre Angriffsfläche bei der humoralen Abstossungsreaktion stellen die Endothelzellen dar (29;30). Das Subendothel enthält neben strukturellen Bestandteilen wie Kollagen, Elastin, Fibronectin und Laminin auch funktionelle Einheiten wie z.B. Glucosaminoglykane, Thrombomodulin, Fibronectin und von-

Willebrand-Faktor. Neben mechanischen Funktionen verhindert das endotheliale System mit seinen verschiedenen Mediatoren vor allem die intravasale Gerinnung und beeinflusst im großen Maße die Motorik des entsprechenden Gefäßes. Als auslösendes Ereignis bei der Antikörper-vermittelten Abstossungsreaktion gilt die Bindung von komplementaktivierenden Antikörpern an endotheliale Oberflächenstrukturen. Antikörper- und Komplementreaktion induzieren eine Abfolge von Veränderungen im Endothel des Transplantates, die zur Aktivierung und nachfolgender Zytolyse der Endothelzelle führen. Als Folge der Schädigung der endothelialen Integrität kommt es im weiteren Verlauf zum Verlust des endothelialen Oberflächen-Heparan-Sulfat-Proteoglykan, welches durch Aktivierung von Antithrombin III eine wichtige Rolle bei der intravasalen Antikoagulation spielt und ein Bestandteil der endothelialen Barrierefunktion ist (31). Neben diesen Funktionen verhindern Heparan-Sulfat-Proteoglykane durch Aktivierung der Superoxid-Dismutase Endothelzellschäden durch freie Radikale (31). Durch sinkende Prostazyklinkonzentrationen kommt es zum Überwiegen der vasokonstriktorisches Mediatoren und zu einer ischämischen Schädigung des Transplantates. Letztendlich wird durch Komplementaktivierung und nachfolgende Endothelzellschädigung ein Circulus vitiosus in Gang gesetzt, der die endotheliale Integrität zerstört. Neben humoral vermittelten Reaktionsmechanismen exprimieren aktivierte Endothelzellen Adhäsionsmoleküle (Selektine, Integrine) und erleichtern dadurch die Adhäsion und Immigration von Leukozyten und von phagozytierenden mononukleären Zellen (32;33). Adhärente Neutrophile wiederum sind in der Lage, durch Endothelzellschädigung die zuvor beschriebenen Abstossungsmechanismen zu triggern. Aus den Ausführungen ist ersichtlich, dass bei der humoralen Abstossungsreaktion komplexe Interaktionen zwischen Mediatoren und humoralen Komponenten sowie zellulären Bestandteilen des Immunsystems bestehen. Humorale Abstossungsmechanismen spielen, neben ihrer überragenden Bedeutung bei Transplantationen von vorsensibilisierten Empfängern, eine bedeutende Rolle bei der akuten sowie chronischen allogenen Abstossungsreaktion.

1.2 Die chronische Transplantatdysfunktion

Die chronische Transplantatabstossung stellt das Hauptproblem für das Langzeitüberleben transplantierter Organe dar (9). Die Pathophysiologie der chronischen Transplantatdysfunktion wird generell in 3 Phasen unterteilt: Die teils durch Antikörper, teils durch unspezifische Schädigungen vermittelte Phase des initialen Transplantatschadens, gefolgt von zellvermittelten inflammatorischen Gewebereaktionen; als Endphase erfolgen Reparationsmechanismen, die zur Gewebefibrose und Sklerose führen (34;35). Histomorphologisch zeigen sich organübergreifende Veränderungen im Sinne einer progredienten Destruktion luminärer Strukturen, die organspezifisch im Bereich von Gefäßen, Glomeruli, Gallengängen oder Bronchiolen dominieren. Diese Veränderungen sind proliferativer Natur; dies wird als Reaktion auf vorausgegangene Inflammationen im Sinne eines Reparaturmechanismus gedeutet (36).

Die chronische Rejektion wurde lange Zeit als ein primär Antikörper-vermitteltes Geschehen interpretiert. Histomorphologisch lassen sich Immunglobuline, Komplement und Endothelzell-spezifische Antikörper in Geweben chronisch abgestossener Organe nachweisen. Experimentelle Daten belegen die Bedeutung der Immunglobuline, wobei die Bedeutung von Antikörperablagerungen nach klinischer Transplantation für die chronische Transplantatfunktion immer noch Gegenstand lebhafter Diskussionen ist (22;35;37).

Begleitend zur humoralen Antwort kommt es in der initialen Periode nach Transplantation getriggert durch inkompatible Empfängergene zu einer ausgedehnten Infiltration des Transplantates mit mononukleären Zellen. Eine persistierende, gering ausgeprägte zelluläre Infiltration führt über die Freisetzung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren verstärkt zur Endothel- und Fibroblastenaktivierung, die schließlich zu Organ-spezifischen Veränderungen führt. Die Monozyten- und Makrophagen- Infiltration des Organs scheint vor allem in der initialen postoperativen Phase von Bedeutung zu sein. Es zeigt sich, dass vor allem die Expression Makrophagen-assoziiierter Produkte mit der Entwicklung irreversibler struktureller Läsionen korreliert (22;38). Progressive

vaskuläre Veränderungen bei fortschreitender chronischer Rejektion werden durch repetitive Episoden endothelialer Aktivierung vermittelt, gefolgt von Reparaturmechanismen, welche zur Proliferation der extrazellulären Matrix, von Fibroblasten und glatter Muskulatur führen. Unabhängig vom initialen Schaden führt die endotheliale Aktivierung zur gesteigerten Expression von Adhäsionsmolekülen und chemotaktischen Faktoren (39). Beide Mechanismen ermöglichen die Transmigration immunkompetenter Zellen. Zirkulierende Monozyten, neutrophile Zellen und Lymphozyten infiltrieren geschädigte oder aktivierte Areale und unterhalten durch die Expression von Zytokinen und Wachstumsfaktoren sowohl proinflammatorische als auch profibrotische Prozesse im transplantierten Organ.

Unter den potentiellen Risikofaktoren für die chronische Transplantatdysfunktion scheinen akute Abstossungsreaktionen als Antigen-abhängige Faktoren eine herausragende Rolle zu spielen (40). Klinisch wird dies vor allem durch die enge Korrelation zwischen der Anzahl akuter Abstossungsreaktionen und dem Risiko der chronischen Rejektion belegt (41). Diese Korrelation bleibt auch nach scheinbar erfolgreicher Therapie der akuten Abstossungsreaktion bestehen (42). Sowohl klinische als auch experimentelle Untersuchungen belegen, dass neben Antigen-abhängigen Faktoren Antigen-unabhängige Faktoren entscheidend die Initiation und das Fortschreiten der chronischen Rejektion beeinflussen (43). Diese Risikofaktoren beinhalten neben der Ischämiezeit und Medikamenten-assoziierten Nebenwirkungen vor allem Spender-assoziierte Faktoren (Alter, Spenderkrankheiten, Todesursache). Es ist davon auszugehen, dass ein multifaktorielles Geschehen mit einer engen Interaktion zwischen Antigen-unabhängigen und Antigen-abhängigen Faktoren der chronischen Transplantatdysfunktion zu Grunde liegt.

1.3 Risikofaktoren der Transplantatdysfunktion

1.3.1 Alloantigen-unabhängige Faktoren

Der Einfluss Alloantigen-unabhängiger Faktoren in der Entwicklung der chronischen Transplantatdysfunktion wird nach isogener oder syngener Transplantation demonstriert. Langzeituntersuchungen nach experimenteller isogener Nierentransplantation zeigen morphologische und strukturelle Veränderungen, welche chronischen Rejektionen nach allogener Organtransplantation gleichen (44). Bei klinischen Untersuchungen zeigte sich, dass ca. 40% der Nierentransplantate zwischen eineiigen Zwillingen nach 10 Jahren ihre Funktion einstellten. Dies wird zum Teil auf ein Rezidiv der Grunderkrankung zurückgeführt, andererseits jedoch auch mit Schädigungen durch die Transplantation "per se" erklärt. Die bessere Langzeitfunktion von immunologisch optimal gematchten Organen unterstreicht die Wichtigkeit immunologischer Parameter für die chronische Organdysfunktion, andererseits relativiert die Auswertung großer Patientenkollektive die Bedeutung der immunologischen Parameter (45). Die Langzeitfunktion nach Transplantation von nichtverwandten Lebendspenderorganen ist im Vergleich zu verwandten Lebendspenderorganen identisch. Andererseits ist die Langzeitfunktion von Leichenspenderorganen immer schlechter als die Funktion von Lebendspenderorganen, trotz des üblicherweise besseren immunologischen Matchings der Leichenspender-Organe (46;47). Experimentelle und klinische Arbeiten belegen, dass eine Reihe von Spender-spezifischen Risikofaktoren die Organqualität definieren; so wird diese bereits vor Organentnahme u.a. durch Spenderkriterien (Spenderalter, Spender-assoziierte Erkrankungen), den Hirntod des Spenders, Intensivtherapie und deren Dauer, chirurgische Manipulationen bei Organentnahme sowie durch die Ischämie beim Organtransport beeinflusst (48-51). Die Summation dieser Risikofaktoren vor Transplantation führt zu einer unspezifischen immunologischen Aktivierung des Organs, welche nach Transplantation eine verstärkte Empfängerantwort induziert. Die synergistische Steigerung der Alloantigen-abhängigen Immunantwort durch Spender-spezifische Risikofaktoren führt durch eine reduzierte Funktionskapazität des

Organs in Kombination mit verstärkt auftretenden akuten Abstossungsepisoden zu einer frühen und akzelerierten Schädigung des Organs. Im weiteren Verlauf nach Transplantation kann es durch spezifische Antigen-abhängige, wie durch unspezifische Antigen-unabhängige Schädigungen zur Triggerung der chronischen Transplantatdysfunktion kommen. Bei den Risikofaktoren spielen vor allem Infektionen, Spender-spezifische Erkrankungen sowie die Toxizität der eingesetzten Immunsuppression eine bedeutende Rolle (10).

1.3.2 Alloantigen-abhängige Faktoren

Es wird allgemein akzeptiert, dass der Grad der HLA-Übereinstimmung die Frequenz und Intensität akuter Rejektionen nach Transplantation entscheidend beeinflusst (52). Klinisch und experimentell wurde gezeigt, dass die Frequenz akuter Abstossungsreaktionen entscheidend für den Langzeitverlauf nach Transplantation sind. Durch akute Abstossungsreaktionen kommt es zu einem progredienten Verlust funktionellen Parenchyms und somit zu einer schnell fortschreitenden funktionellen Überlastung des transplantierten Organs. Als pathophysiologischer Reaktionsmechanismus folgt der funktionellen Überlastung eine Zytokin-vermittelte Proliferation und Fibrose. Aktuelle Untersuchungen zeigen eine signifikant bessere Langzeitfunktion bei HLA-kompatiblen Spender/Empfängerpaaren (52). Experimentell wird die Bedeutung der Alloantigen-abhängigen Faktoren auch durch das signifikant frühere und ausgeprägtere Auftreten der chronischen Organdysfunktion bei Allotransplantaten im Vergleich zu Isotransplantaten untermauert (53).

1.4 Zusammenhang zwischen Alloantigen-unabhängigen und Alloantigen-abhängigen Risikofaktoren

Sowohl Antigen-abhängige als auch Antigen-unabhängige Risikofaktoren führen initial über endotheliale Schäden zur immunologischen Transplantataktivierung. Unspezifische und spezifische Risikofaktoren können zu einer Verletzung der endothelialen Integrität und der Expression von zahlreichen immunogenen endothelialen Oberflächenmolekülen führen. Dieser gemeinsame Mechanismus

bedingt eine enge Verflechtung zwischen initial zwar unspezifischen Antigen-unabhängigen Zellschäden und einer nachfolgenden spezifischen Antigen-getriggerten Immunantwort (Abb.1). Je schlechter das immunologische Matching

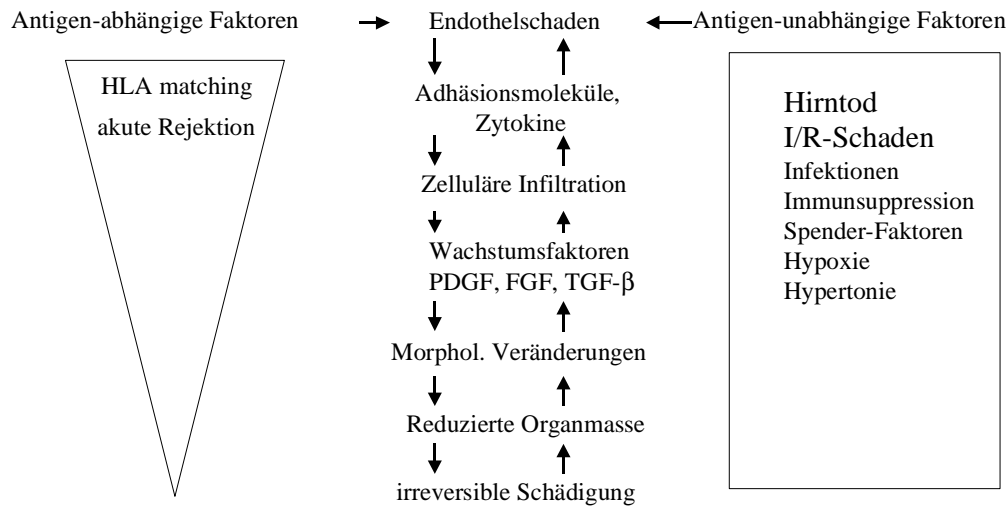


Abb. 1: Interaktion zwischen Antigen-abhängigen und Antigen-unabhängigen Risikofaktoren

zwischen Transplantat und Empfänger ist, desto stärker wird die inflammatorische Antwort auf den initial unspezifischen Schaden sein.

Den verschiedenen Risikofaktoren kann sowohl ein isolierter Einfluss als auch ein additiver oder synergistischer Effekt zukommen. Vor allem Risikofaktoren, welche bereits vor Transplantation die Organqualität definieren, scheinen nach Transplantation bei der Induktion und Triggerung akuter Abstossungsreaktionen eine bedeutende Rolle zu spielen und beeinflussen somit die Langzeitfunktion.

1.5 Spender-spezifische Risikofaktoren - Hirntod des Organspenders

Transplantate von nichtverwandten Lebendspendern zeigen unabhängig von der immunologischen Kompatibilität eine signifikant bessere Kurzzeit- und Langzeitfunktion im Vergleich zu Transplantaten von hirntoten Organspendern (50;54). Die Tatsache, dass das Überleben von Nierentransplantaten von nichtverwandten Lebendspendern annähernd identisch mit dem Organüberleben von verwandten Lebendspendern ist, demonstriert die Bedeutung Antigen-unabhängiger Faktoren und relativiert die Rolle von HLA-Unterschieden (55). Die Vermutung, dass das unterschiedliche Organüberleben nach Transplantation von Kadaver- und Lebendspenderorganen auf pathophysiologischen und weniger auf genetischen Unterschieden beruht, führte zu Untersuchungen des Zusammenhangs funktioneller und struktureller Veränderungen assoziiert mit unspezifischer Organschädigung.

Bereits in den 80er Jahren wurden die ersten Untersuchungen zum Hirntod des Organspenders durchgeführt und eine signifikant reduzierte Sofortfunktion von Organen von hirntoten Spendern im Vergleich zu denen von Lebendspendern beobachtet (56-59). Die Untersucher beschrieben an Herzen hirntoter Organspender morphologische und funktionelle Veränderungen in experimentellen Modellen. Im Myokard zeigten sich neben einer ödematösen Auflockerung der myozytären Strukturen Infiltrate mit Monozyten (60). In Nieren und Lungen derselben Spender fanden sich ebenfalls strukturelle Veränderungen. Die vorliegenden Strukturveränderungen führten die Untersucher vor allem auf hormonelle und metabolische Entgleisungen zurück. Veränderungen des Kortisolspiegels und reduzierte Schilddrüsenhormone in Kombination mit einer Azidose scheinen in diesem Zusammenhang von Bedeutung (61;62). Die Veränderungen im Rahmen des Hirntodes des Spenders wurden unter dem Begriff „autonomer Sturm“ zusammengefasst und beinhalten massive Blutdruckschwankungen, Hypotension, Koagulopathien sowie Elektrolyt- und Hormonentgleisungen (61;63)66) Der hypertensiven Stressreaktion nach Induktion des Hirntodes folgen normotensive und im weiteren Verlauf hypotensive Phasen mit kardiopulmonaler Instabilität. Der gesamte Organismus

ist einer massiven sympathogenen Stimulation, vermittelt durch systemisch oder endogen freigesetzte Katecholamine, ausgesetzt (64;65).

Allogene Transplantate, sowohl von marginalen Spendern als auch von hirntoten Organspendern, sind zum Zeitpunkt der Entnahme immunologisch aktiviert. Somit initiieren oder amplifizieren sie zum Zeitpunkt der Transplantation die Immunantwort des Organempfängers (50;66;67). Das potentiell aktivierte Organ provoziert eine Interaktion zwischen unspezifischen proinflammatorischen Schäden und der zum Zeitpunkt der Reperfusion einsetzenden Immunantwort. Die Hypothese, dass der Faktor Hirntod die Immunogenität prospektiver Transplantate erhöht, wurde erstmals von TILNEY und seinen Mitarbeitern überprüft (68).

Der Einfluss des Spenderhirntodes auf die Transplantatqualität, die Auswirkungen auf den Transplantaterfolg, die Definition und Therapie dieses Risikofaktors sind zentrale Punkte der vorliegenden Habilitationsschrift.

1.6 Verbesserung der Organqualität durch immunmodulatorische Ansätze vor Transplantation

Aktuell wird die organprotektive Therapie im Organspender durch die Gabe von konservierender Perfusionslösung begonnen. Weitergehende therapeutische Ansätze im Vorfeld der Transplantation, im Sinne einer sogenannten Spendertherapie, sind klinisch nicht etabliert. Als Konzepte bieten sich eine Reduzierung der durch Alloantigen-unabhängige Faktoren bedingten unspezifischen Schädigungen im Organspender an. Von Bedeutung scheint in diesem Zusammenhang eine Korrelation zwischen der Organqualität vor Transplantation und der Inzidenz akuter Abstossungsreaktionen nach Transplantation zu sein. Vor diesem Hintergrund erscheint die antiinflammatorische Vorbehandlung des Organspenders ein sinnvoller therapeutischer Ansatz. Die Verbesserung der Organqualität durch experimentelle Spendervorbehandlung ist Teil der Habilitationsschrift.

2. Eigene Arbeiten

Die eigenen Untersuchungen beschäftigen sich zunächst mit der Etablierung sowie der Analyse eines klinisch relevanten tierexperimentellen Modells der Hirntodinduktion. In diesem Modell wurde die Rolle relevanter Zytokine, zellulärer Infiltrate sowie von Wachstumsfaktoren untersucht.

In nachfolgenden Publikationen wurden sowohl der aktuelle Forschungsstand, als auch eigene Arbeiten zum Thema Hirntod und Organqualität zusammengefasst und gewertet.

Weitere zentrale Untersuchungen dieser Habilitationsschrift galten der Untersuchung des Zusammenhangs der Risikofaktoren Hirntod und Ischämie/Reperfusionsschaden mit der Transplantatfunktion nach allogener und isogener Transplantation. Diese Fragestellungen wurden für Nieren- und Herztransplantate bearbeitet.

Als Alloantigen-unabhängige Einflussgrösse wurde die Rolle des Hirntodes bei der chronischen Transplantatdysfunktion in isogenen und allogenen Modellen definiert.

Als weitere Spender-spezifische Risikofaktoren wurden vor allem der Hypertonus des Organspenders sowie die Organqualität von "non-heart-beating-donors" untersucht.

Therapeutische Strategien zur Reduzierung des Ischämie/Reperfusionsschadens, akuter Abstossungsreaktionen und der chronischen Transplantatdysfunktion wurden sowohl in Abhängigkeit vom Risikofaktor Hirntod, als auch in den Modellen des marginalen Spenders und des "non-heart-beating-donors" untersucht (letztere mit Kooperationspartnern).

2.1 Analyse des Modells des Hirntodes

Unserer Arbeitsgruppe gelang erstmals die Etablierung eines normotensiven tierexperimentellen Hirntodmodells. In diesem Modell können die Einflüsse des Spenderhirntodes auf die Transplantatqualität und in nachfolgenden Untersuchungen auf die Transplantatfunktion untersucht werden. In vorliegender Arbeit wird die Methode beschrieben sowie die Wertigkeit des Modells diskutiert.

(J.Pratschke, M.J. Wilhelm, M.Kusaka, I.Laskowski, N.L. Tilney, Transplantation 2000)

2.2 Definition der Organqualität nach Hirntodinduktion

Diese Publikationen summieren und diskutieren aktuelle Veröffentlichungen und Ergebnisse zum Thema Hirntod und Organqualität. Vor allem eigene Arbeiten und Ergebnisse zum Thema Hirntod und Organqualität werden berücksichtigt.

(J.Pratschke, M.J. Wilhelm, M. Kusaka, M. Basker, D.K.C. Cooper, W.W. Hancock, N.L. Tilney, Transplantation 1999; J.Pratschke, M.Wilhelm, M.Kusaka, W.W.Hancock, N.L.Tilney. Transpl Proc 1999; M.J. Wilhelm, J. Pratschke, I.Laskowski, D.Paz, N.L. Tilney. J Heart and Lung Transplant, 2000)

2.3 Einfluss des Spender-Hirntodes auf Ischämie/Reperfusionsschaden und akute Abstossungsreaktionen nach Transplantation

Der Einfluss des Risikofaktors Spenderhirntod wurde in allogenen und isogenen Nieren- und Herztransplantationsmodellen untersucht. Dabei zeigte sich, dass der Hirntod des Spenders durch proinflammatorische Veränderungen nach Transplantation den Ischämie/Reperfusionsschaden verstärkt und es nachfolgend zu einer akzelerierten Abstossungsreaktion im allogenen Modell kommt. Im isogenen Modell konnte nach Transplantation eine gesteigerte unspezifische Immunantwort beobachtet werden. Diese für weitere Untersuchungen richtungsweisenden Beobachtungen zeigen eine bedeutende Rolle des Antigen-unabhängigen Risikofaktors Hirntod in der Frühphase nach Transplantation. *(J.Pratschke, M.J. Wilhelm, M.Kusaka, F.Beato, E.L. Milford, W.W. Hancock, N.L. Tilney. Ann Surg 2000; M.Kusaka, J.Pratschke, M.J. Wilhelm, F.Ziai, K. Zandi-Nejad, W.W. Hancock, N.L. Tilney. Transplantation 2000; M.J. Wilhelm, J.Pratschke, M.Kusaka, W.W. Hancock, N.L.Tilney, Circulation 2000; M.J. Wilhelm, J.Pratschke, M.Kusaka, W.W. Hancock, N.L.Tilney. Transpl Proc 1999; J. Pratschke, M.J. Wilhelm, W.W. Hancock, S.G. Tullius, P.Neuhaus, N.L. Tilney. Langenbecks Archiv für Chirurgie, 1999; J.Pratschke, M.Kusaka, M.J. Wilhelm, N.L. Tilney. Surgical Forum 1998)*

2.4 Einfluss des Spender-Hirntodes auf die chronische Transplantatdysfunktion

Diese Arbeiten zeigten den Einfluss des Risikofaktors Hirntod auf die Entwicklung der chronischen Transplantatdysfunktion. Zur Differenzierung zwischen Antigen-abhängigen und Antigen-unabhängigen Faktoren wurden die Versuche in Modellen sowohl der isogenen als auch allogenen Nierentransplantation durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass es in Transplantaten von hirntoten Spendern zu einer früheren und progressiv verlaufenden Form der chronischen Abstoßung kommt.

(J.Pratschke, M.J. Wilhelm, M.Kusaka, I.Laskowski, S.G.Tullius, P.Neuhaus, W.W.Hancock, N.L. Tilney. J Am Soc Nephrol 2001, 12: 2474-2481, J.Pratschke, M.J. Wilhelm, I.Laskowski, M.Kusaka, S.G.Tullius, P.Neuhaus, W.W.Hancock, N.L. Tilney. Transpl Proc 2001, 33: 693-694, M.Kusaka, J.Pratschke, M.J.Wilhelm, F.Ziai, K.Zandi-Nejad, H.S.MacKenzie, W.W.Hancock, N.L.Tilney. Transpl Proc 2001, 33: 867-868, M.Wilhelm, J.Pratschke, D.Paz, I.Laskowski, W.W.Hancock, P.Neuhaus, N.L.Tilney. Transpl Proc 2001, 33: 366-367, M.J. Wilhelm, J.Pratschke, D.Paz, I.Laskowski, N.L.Tilney. Current Opinion in Organ Transplantation 1999; 4:11-15, J.Pratschke, M.J. Wilhelm, W.W. Hancock, S.G. Tullius, N.L.Tilney und P.Neuhaus. Langenbecks Archiv für Chirurgie, Chirurgisches Forum 2000 für experimentelle und klinische Forschung, S241-244)

2.5 Einfluss weiterer Risikofaktoren auf die Transplantatfunktion

Als Alloantigen-unabhängige Risikofaktoren wurden in weiteren Untersuchungen der Hypertonus des Organspenders in Modellen der allogenen Nieren - und Herztransplantation untersucht. Es zeigte sich, dass die Organqualität durch den Hypertonus des Spenders signifikant beeinflusst wird und transplantierte Organe eine schlechtere Funktion zeigen.

(M.Wilhelm, J.Pratschke, D.Paz, I.Laskowski, W.W.Hancock, P.Neuhaus, N.L.Tilney. Transpl Proc 2001,33: 321-322)

In einer weiteren Untersuchung wurde das Problem des "non-heart-beating-donor" behandelt. Die experimentellen Untersuchungen demonstrierten eine deutliche Verschlechterung der Transplantatfunktion in Abhängigkeit von der Dauer des Todes des Empfängers.

(I.Laskowski, J.Pratschke, M.J.Wilhelm, N.L.Tilney. *Transpl Proc* 2001, 33: 843-844, Laskowski I.A, Pratschke J, Wilhelm M.J, Paz D, Tilney N.L. *Clin Transplant*, 1999, 13: 281-286, I.Laskowski, J.Pratschke, M.J.Wilhelm, N.L.Tilney. *Transplantation* 2002, 15: 1468-1473)

2.6 Therapeutische Ansätze zur Verbesserung der Transplantatqualität

Die Prävention der chronischen Transplantatabstossung gelang in einem Modell schwacher Histokompatibilität mittels einer zweiten Spender-spezifischen Transplantation nach initialer Nierentransplantation. Diese Untersuchungen zeigten die Rolle Antigen-abhängiger Faktoren für die Entwicklung der chronischen Rejektion, sowie deren Interaktion mit Alloantigen-unabhängigen Faktoren.

(S.G.Tullius, M.Nieminen, W.O. Bechstein, S.Jonas, J.Pratschke, H.D.Volk, P.Neuhaus. *Transplantation* 1997; 64:158-161, S.G.Tullius, M.Nieminen, W.O.Bechstein, S.Jonas, J.Pratschke, H.D.Volk, P.Neuhaus. *Transpl Proc* 1997; 29:3034-3035)

Weitere Arbeiten demonstrierten, dass mittels unterschiedlicher therapeutischer Ansatzpunkte eine verbesserte Organfunktion nach Transplantation erreicht werden kann. Neben spezifischen Ansätzen mittels Blockade der Kostimulation bzw. von Adhäsionsmolekülen werden auch unspezifische Ansätze mittels Steroidtherapie oder der Induktion protektiver Gene untersucht. (*J.Pratschke, G.Kofla, M.Wilhelm, A.Vergopoulos, S.G.Tullius, N.L.Tilney, H.D.Volk, P.Neuhaus, Langenbecks Archiv für Chirurgie, 2002, J.Pratschke, G.Kofla, M.Wilhelm, A.Vergopoulos, I.Laskowski, G.Shaw, S.G.Tullius, H.D.Volk, P.Neuhaus, N.L.Tilney. Ann Surg* 2001, A. Reutzel-Selke, S.G. Tullius, T.Zschockelt, U. Bachmann, M.Nieminen, S. Jonas, J. Pratschke, W.O.Bechstein, H.D. Volk, P.Neuhaus. *Transpl Proc* 2001, I.Laskowski,

J.Pratschke, M.J.Wilhelm, J.B.Ames, V.M.Dong, F.Beato, M.H.Sayegh, N.L.Tilney. Transpl Proc 2001, S.G.Tullius, M.Nieminen, U.Bachmann, A.Reutzel-Selke, S.Jonas, J.Pratschke, W.O.Bechstein, P.Reinke, R.Buelow, P.Neuhaus, H.D.Volk. Transpl Proc 2001, S.G. Tullius, M. Nieminen, U. Bachmann, A. Reutzel-Selke, S. Jonas, J. Pratschke, W.O.Bechstein, P.Reinke, R.Buelow, P.Neuhaus, H.D.Volk. Transpl Proc 2001, I.Laskowski, J.Pratschke, M.J.Wilhelm, V.M.Dong, F.Beato, M.Taal, M.Gasser, W.W.Hancock. M.H.Sayegh, N.L.Tilney. J Am Soc Nephrol 2002.)

3. Relevante Publikationen

Im folgenden sind die wichtigsten Publikationen aufgeführt.

3.1 Analyse des Modells des Hirntodes

- A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats. J.Pratschke, M.J.Wilhelm, M.Kusaka, I.Laskowski, N.L.Tilney, Transplantation 2000, 69: 427-430

3.2 Definition der Organqualität nach Hirntodinduktion

- Brain death and its influence on donor organ quality and outcome after transplantation. J.Pratschke, M.J.Wilhelm, M.Kusaka, M.Basker, D.K.C.Cooper, W.W.Hancock, N.L.Tilney, Transplantation 1999; 67:343-348,
- Activation of donor proinflammatory genes in somatic organs as a consequence of brain death. J.Pratschke, M.Wilhelm, M.Kusaka, W.W.Hancock, N.L.Tilney. Transpl Proc 1999; 31:1003-1005
- Brain death and its impact on the donor heart - lessons from animal models. M.J.Wilhelm, J.Pratschke, I.Laskowski, D.Paz, N.L.Tilney. J Heart and Lung Transplant, 2000 19:414-418

3.3 Einfluss des Spender-Hirntodes auf Ischämie/Reperfusionsschaden und akute Rejektionen nach Transplantation

- Accelerated rejection of rat renal allografts from brain-dead donors. J.Pratschke, M.J.Wilhelm, M.Kusaka, F.Beato, E.L.Milford, W.W.Hancock, N.L.Tilney. *Ann Surg* 2000, 232: 263-271
- Activation of inflammatory mediators in rat renal isografts by donor brain death M.Kusaka, J.Pratschke, M.J.Wilhelm, F.Ziai, K.Zandi-Nejad, W.W.Hancock, N.L.Tilney. *Transplantation* 2000, 69: 405-10
- Activation of the heart by donor brain death accelerates acute rejection after transplantation. M.J.Wilhelm, J.Pratschke, M.Kusaka, W.W.Hancock, N.L.Tilney, *Circulation* 2000, 102:2426-2433
- Donor brain death affects tempo and intensity of acute rejection of rat cardiac allografts. M.J.Wilhelm, J.Pratschke, M.Kusaka, W.W.Hancock, N.L.Tilney. *Transpl Proc* 1999; 31:1008-1009
- Akzelerierte akute Rejektion allogener Nierentransplantate von hirntoten Organspendern. J.Pratschke, M.J.Wilhelm, W.W.Hancock, S.G.Tullius, P.Neuhaus, N.L.Tilney. *Langenbecks Archiv für Chirurgie, Chirurgisches Forum* 1999 für experimentelle und klinische Forschung, S407-11

3.4 Einfluss des Spender-Hirntodes auf die chronische Rejektion

- The influence of donor brain death on chronic rejection of renal transplants in rats. J.Pratschke, M.J.Wilhelm, M.Kusaka, I.Laskowski, S.G.Tullius, P.Neuhaus, W.W.Hancock, N.L.Tilney. J Am Soc Nephrol 2001, 12: 2474-2481
- The influence of donor brain death on long-term function of renal allotransplants in rats. J.Pratschke, M.J.Wilhelm, I.Laskowski, M.Kusaka, S.G.Tullius, P.Neuhaus, W.W.Hancock, N.L.Tilney. Transpl Proc 2001, 33: 693-694
- Early and late inflammatory changes occurring in rat renal isografts from brain dead donors. M.Kusaka, J.Pratschke, M.J.Wilhelm, F.Ziai, K.Zandi-Nejad, H.S.MacKenzie, W.W.Hancock, N.L.Tilney. Transpl Proc 2001, 33: 867-868
- Altered alloimmune response towards grafts from brain-dead donors in chronic rat cardiac allograft rejection. M.Wilhelm, J.Pratschke, D.Paz, I.Laskowski, W.W.Hancock, P.Neuhaus, N.L.Tilney. Transpl Proc 2001, 33: 366-367
- Einflüsse des Hirntodes auf die Langzeitfunktion allogener und isogener Nierentransplantate. J.Pratschke, M.J.Wilhelm, W.W.Hancock, S.G.Tullius, N.L.Tilney und P.Neuhaus. Langenbecks Archiv für Chirurgie, Chirurgisches Forum 2000 für experimentelle und klinische Forschung, S.241-244
- Chronic rejection-increasing evidence for the importance of allogen independent factors. M.J.Wilhelm, M.Kusaka, J.Pratschke, N.L.Tilney. Transpl Proc 1998; 30:2402-2406

3.5 Einfluss weiterer Risikofaktoren auf die Transplantatfunktion

- Donor hypertension and recipient immune responsiveness in chronic rat cardiac allograft rejection. M.Wilhelm, J.Pratschke, D.Paz, I.Laskowski, W.W.Hancock, P.Neuhaus, N.L.Tilney. *Transpl Proc* 2001,33: 321-322
- Early and late injury to renal transplants from non-heart-beating-donors. I.Laskowski, J.Pratschke, M.J.Wilhelm, N.L.Tilney. *Transplantation* 2002, 15:1468-1473
- Non-Heartbeating Kidney Donors. Laskowski I.A, Pratschke J, Wilhelm M.J, Paz D, Tilney N.L. *Clin Transplant*, 1999, 13: 281-286

3.6 Therapeutische Ansätze zur Verbesserung der Transplantatqualität

- Improvements in early behavior of kidney allografts after treatment of the brain-dead donor. J.Pratschke, G.Kofla, M.Wilhelm, A.Vergopoulos, I.Laskowski, G.Shaw, S.G.Tullius, H.D.Volk, P.Neuhaus, N.L.Tilney. Ann Surg 2001, 6:732-740
- Risikofaktor Hirntod-Einflüsse der Spendervorbehandlung auf die Funktion nach experimenteller Nierentransplantation. J.Pratschke, G.Kofla, M.Wilhelm, A.Vergopoulos, S.G.Tullius, N.L.Tilney, H.D.Volk, P.Neuhaus
Langenbecks Archiv für Chirurgie, Chirurgisches Forum 2002 für experimentelle und klinische Forschung, S301-303
- Chronically rejected rat kidney allografts induce donor-specific tolerance. S.G.Tullius, M.Nieminen, W.O.Bechstein, S.Jonas, J.Pratschke, H.D.Volk, P.Neuhaus. Transplantation 1997; 64:158-161
- Donor pretreatment of grafts from marginal donors improves long-term graft outcome. A.Reutzel-Selke, S.G.Tullius, T.Zschockelt, U.Bachmann, M.Nieminen, S.Jonas, J.Pratschke, W.O.Bechstein, H.D.Volk, P.Neuhaus. Transpl Proc 2001, 33: 970-971
- Prolongation of survival and preservation of allograft structure and function by a signaling CD28 mAB in a rat model of chronic kidney rejection. I.Laskowski, J.Pratschke, M.J.Wilhelm, J.B.Ames, V.M.Dong, F.Beato, M.H.Sayegh, N.L.Tilney. Transpl Proc 2001, 33: 567-568
- Induction of hemoxygenase (HO-1) prevents ischemia/reperfusion injury and improves long-term graft outcome in rat renal allografts. S.G.Tullius, M.Nieminen, U.Bachmann, A.Reutzel-Selke, S.Jonas, J.Pratschke, W.O.Bechstein, P.Reinke, R.Buelow, P.Neuhaus, H.D.Volk. Transpl Proc 2001, 33: 1286-1287

- Improvement of long-term function in renal allografts from “marginal donors” following the induction of hemoxygenase 1. S.G.Tullius, M.Nieminen, U.Bachmann, A.Reutzel-Selke, S.Jonas, J.Pratschke, W.O.Bechstein, P.Reinke, R.Buelow, P.Neuhaus, H.D.Volk. *Transpl Proc* 2001, 33: 1160-1161
- Anti-CD28 monoclonal antibody therapy prevents chronic rejection of renal allografts in rats. I.Laskowski, J.Pratschke, M.Wilhelm, V.Dong, F.Beato, M.Taal, M.Gasser, W.Hancock. M.Sayegh, N.Tilney. *J Am Soc Nephrol* 2002, 13: 519-527

4. Diskussion

4.1 Analyse des Modells der Hirntodinduktion

Das zunehmende Interesse an den Auswirkungen des Risikofaktors Hirntod führte zu einer Reihe experimenteller und klinischer Untersuchungen (49;69-72). Untersuchungen zum Thema Hirntod datieren bis in die 80er Jahre zurück (58). Zur Untersuchung des Einflusses des Spenderfaktors Hirntod auf die Organfunktion nach Transplantation etablierten wir, basierend auf vorbestehenden Versuchsansätzen, ein normotensives Hirntodmodell in der Ratte. Die ersten Modelle zur Untersuchung und Induktion des Spender-Hirntodes basierten auf einer explosiven intrakraniellen Druckerhöhung, welche innerhalb von 10 min zum Hirntod führt, jedoch im weiteren Verlauf von einer ausgeprägten systemischen Hypotension gefolgt ist. Dies ist auf eine komplette Zerstörung der kraniellen Regulationsfunktion zurückzuführen (73). Zur Erhaltung der gewünschten Normotension ist in diesen Modellen die Behandlung mit Katecholaminen oder mit aggressiver Flüssigkeitssubstitution obligat (74). Die Modelle der explosiven Hirntodinduktion sind experimentell bei Primaten, Hunden und Nagern etabliert (65;75;76). TILNEY und Mitarbeiter berichteten in diesem Zusammenhang nach explosiver Hirntodinduktion in Ratten erstmals von einer massiven immunologischen Aktivierung im Gewebe der prospektiven Transplantate (77).

Die Genese des Hirntodes beeinflusst entscheidend sowohl das Ausmaß der Organschädigung als auch das Kreislaufverhalten der betroffenen Tiere. Morphologische Veränderungen am Myokard in Hundeherzen sind in Abhängigkeit von der Hirntodursache signifikant unterschiedlich. So zeigen sich nach schneller explosiver Induktion deutlicher ausgeprägte Veränderungen als nach langsamer gradueller Induktion (48;73). Zur Untersuchung transplantationsrelevanter Fragestellungen adaptierten und etablierten wir das Modell der graduellen langsamen Hirntodinduktion in Ratten (78). Die beschriebenen Techniken vermeiden hypotensive Phasen während und nach der Hirntodinduktion und schließen somit inflammatorische Veränderungen basierend auf systemischer Hypotension weitgehend aus. Die Hirntodinduktion

erfolgt langsam, graduell, sowie unter permanenter intraarterieller Druckmessung mittels eines intrakraniell platzierten Fogartykatheters. Alle Tiere wurden mittels Tracheotomie intubiert und maschinell beatmet. Die Verifizierung des Hirntodes erfolgte durch Apnoetestung, Reflexuntersuchungen und die Ableitung eines Elektroenzephalogramms. An repräsentativen Tieren wurden zur Bestätigung der intrakraniellen Druckerhöhung und Herniation des Hirnstamms kraniale Magnetresonanztomographien durchgeführt. Diese demonstrierten die klassischen radiologischen Zeichen der intrakraniellen Druckerhöhung mit zerebralem Ödem, Einblutungen und einer Hirnstammeinklemmung.

Zeigten sich nach Hirntodinduktion Anzeichen der kardiovaskulären Instabilität mit tendenzieller Hypotension, wurde eine langsame kraniale Druckentlastung bis zum Wiedererreichen normotensiver Druckwerte durchgeführt. Aufgrund dieses Prozederes gelang es, mittels des adaptierten Hirntodmodells über 80% der Tiere unter normotensiven Bedingungen für 6-8 Stunden zu beatmen und zu stabilisieren. Nach diesem Zeitraum entwickelten die hirntoten Tiere zunehmende kardiale Arrhythmien sowie hypotensive Phasen und ließen sich ohne extensive supportive Maßnahmen nicht mehr stabilisieren. Vergleichbar zu den Untersuchungen von TILNEY und seiner Mitarbeiter zeigte sich in dem vorgestellten Modell sowohl eine massive mRNA-Expression proinflammatorischer Zytokine als auch die Expression der korrespondierenden Proteine nach Hirntodinduktion (77).

Das Phänomen Hirntod beinhaltet eine Reihe von Veränderungen. Es zeigt sich eine initiale massive Katecholaminausschüttung mit exzessiven hypertensiven Phasen, gefolgt von Arrhythmien, Bradykardien und späteren hypotensiven Phasen (65;79). In unserem Modell konnten anhaltende hypotensive Phasen nach Hirntodinduktion durch den Erhalt autoregulatorischer Kreislaufmechanismen weitgehend vermieden werden. Die beobachtete proinflammatorische Aktivierung von Organen hirntoter Spender ist primär auf Hirntod-assoziierte Veränderungen nach Hirntodinduktion zurückzuführen.

4.2 Definition der Organqualität nach Hirntodinduktion

Transplantate von nichtverwandten Lebendspendern zeigen unabhängig von der immunologischen Kompatibilität eine signifikant bessere Kurzzeit- und Langzeitfunktion im Vergleich zu Transplantaten von hirntoten Leichenspendern. Antigen-unabhängige Faktoren, die diese Unterschiede teilweise erklären können, beinhalten neben der Ischämiezeit den Hirntod des Spenders. Die primäre Quelle für humane Transplantate stellt der hirntote Organspender mit extensivem und irreversiblen zentralneurologischen Trauma dar. Der Hirntod des Spenders und die unter dem Begriff des „autonomen Sturms“ zusammengefassten Veränderungen beinhalten massive Blutdruckschwankungen, Hypotension, Koagulopathien sowie Elektrolyt- und Hormonentgleisungen (80-84). So konnte in den 80er Jahren an Primaten gezeigt werden, dass die Initialfunktion transplantierte Herzen durch den Hirntod des Spenders signifikant beeinträchtigt wird (57). Es zeigte sich, dass es während des Hirntodes zu einer exzessiven Freisetzung systemischer und lokaler Katecholamine in Verbindung mit massiver Hypertension kommt (85-88). Der infolge der Katecholaminkonzentrationen erhöhte Gefäßwiderstand führt im hirntoten Organspender auch bei ausreichendem mittleren arteriellen Druck oder systemischer Hypertension zur reduzierten Organperfusion und Organischämie. Der Anstieg der Katecholaminkonzentrationen und des peripheren Widerstands führt zu einem plötzlichen und massiven Anstieg der myokardialen Nachlast und des zellulären Sauerstoffverbrauchs (89;90). Neben systemischer hormoneller Veränderungen kommt es auf zellulärer Ebene zu einem Anstieg des zytosolischen Kalziums; es folgt die Aktivierung von Lipasen, Protease, Endonukleasen und weiteren Enzymsystemen. Der Aktivierung folgt ein erhöhter ATP-Verbrauch sowie die vermehrte Bildung freier Sauerstoff-Radikale. Die dem Hirntod folgenden zellulären Mechanismen sind diametral zur zellulären Homöostase und tragen zum Organversagen nach Hirntod bzw. nach Transplantation bei. SHIVALKAR und Mitarbeiter zeigten erstmals, dass das Ausmaß der beobachteten Veränderungen nach zerebralem Trauma von der Ursache des Hirntodes abhängt. So werden nach einem explosiven plötzlichen

Einsetzen des Hirntodes ausgeprägtere Veränderungen als nach langsamer Hirntod-Induktion beobachtet (73).

Nach der initial hypertensiven Phase während des "autonomen Sturms" folgen meist hypotensive Phasen mit zunehmender Bradykardie und Arrhythmien. Der Verlust der Gefäßautoregulation führt zur Hypotension mit reduzierter Blut- und Sauerstoffversorgung des Gewebes. Dem Anstieg der Katecholaminkonzentrationen folgen funktionelle und histopathologische Veränderungen, die experimentell und klinisch vor allem am Herzen nachgewiesen wurden (91). In Herzen von Patienten, die an einem akuten zerebralen Trauma verstarben, wurden subendokardiale Nekrosen und ausgedehnte Kontraktionsbanden neben myokardialen Ödemen mit ausgeprägten monozytären Infiltraten nachgewiesen (85). Diese Befunde ließen sich experimentell durch Katecholaminapplikation reproduzieren (87). Durch den Ausfall der regulatorischen zerebralen Hormonsteuerung werden durch absinkende Hormonkonzentrationen weitere proinflammatorische Veränderungen in Organspendern begünstigt.

Der Hirntod des Spenders steigert die Immunogenität des Transplantates durch hormonelle Veränderungen, durch direkt katecholaminvermittelte Toxizität und durch eine früh einsetzende und anhaltende Mikrozirkulationsstörung in peripheren Organen (71). Die ischämische Schädigung setzt sich zusammen aus warmer Ischämie während und nach dem Hirntod, einer warmen Ischämie während der Spenderoperation und einem Zeitraum der kalten Ischämie während der Konservierungs- und Transportphase. Sowohl die Summe der ischämischen Schädigungen als auch die nachfolgende Reperfusion tragen weiter zur Transplantatschädigung bei.

Als Antwort sowohl auf spezifische als auch auf unspezifische Schädigungen exprimieren endotheliale Zellen Adhäsionsmoleküle (Selektine), welche die nachfolgende Immunantwort entscheidend modulieren. Adhärente Leukozyten reagieren mit der Expression einer Reihe von Adhäsionsmolekülen (Intercellular Adhesion Molecule, Vascular Cell Adhesion Molecule, Leukocyte-Function Associated-1), der Freisetzung proinflammatorischer Lymphokine ($\text{TNF}\alpha$, $\text{INF}\gamma$)

und der Expression von MHC I und II Komplexen. Die Gesamtheit der immunmodulatorischen Veränderungen führt zu einer gesteigerten Immunogenität des Transplantates mit einer erhöhten Frequenz akuter Abstossungsreaktionen. Die immunologischen Veränderungen der endothelialen Zelloberfläche und die daraus resultierende Immunogenität des Transplantates beginnen sofort nach der zentralneurologischen Schädigung und sind teilweise durch eine massive Katecholaminfreisetzung erklärbar. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung gestützt, dass schon die kurzzeitige Gabe von Katecholaminen die Transplantatfunktion nach experimenteller Herztransplantation entscheidend verschlechtert.

TILNEY und Mitarbeiter zeigten erstmals in einem Modell der explosiven Hirntodinduktion eine massive Steigerung der Transkriptionsraten proinflammatorischer Zytokine in peripheren Organen (68). Diese Befunde konnten von unserer Arbeitsgruppe in weiterführenden Versuchen in einem Modell der langsamen graduellen Hirntodinduktion bestätigt werden. Es zeigte sich experimentell, dass bereits im Organspender die Transkription proinflammatorische Zytokine erhöht ist und somit ein immunologisch aktiviertes Organ transplantiert wird. Klinische Studien zeigten in Nierenbiopsien hirntoter Spender bereits vor Transplantation eine erhöhte Expression von Selektinen in Verbindung mit neutrophilen Zellinfiltraten (50). Eigene klinische Daten in sequentiell durchgeführten Leberbiopsien demonstrierten signifikant erhöhte Transkriptionsraten proinflammatorischer Zytokine in Organen hirntoter Spender im Vergleich zu entsprechenden Transplantaten von Lebendspendern (unpublizierte Daten). Die Auswirkungen der erhöhten Immunogenität auf die Organfunktion nach Transplantation wurde in weitergehenden Studien untersucht.

4.3 Einfluss des Hirntodes auf die Transplantatfunktion

Bei der Untersuchung des Risikofaktors Hirntod stellt sich die Frage, inwieweit die beobachteten proinflammatorischen Veränderungen im Spenderorgan die Organfunktion nach Transplantation beeinflussen. Zur Beantwortung dieser

Fragestellung untersuchten wir die initialen zellulären und molekularen Veränderungen nach allogener Nieren – und Herztransplantation. Die Transplantationsversuche erfolgten in der Kombination F344→Lewis, eine in der Literatur anhand der Histokompatibilitätsunterschiede als “schwach” klassifizierte Spender/Empfängerkombination. Es ist mittlerweile bekannt, dass sich diese Spender/Empfängerkombination in 2 MHC Klasse I Loci und verschiedenen nicht MHC-assoziierten Genen (RT6) unterscheidet. Die Wahl eines “schwachen” Modells erfolgte, um eventuelle Unterschiede in der akuten Abstossungskinetik unbehandelter Empfänger zu erkennen. In Spender/Empfängerkombinationen mit kompletten MHC-mismatch führen üblicherweise akute Abstossungsreaktionen innerhalb von 10 Tagen zum Organversagen. Jegliche Variationen der Abstossungskinetik aufgrund Spender-assoziiertes Veränderungen wären aufgrund der starken Empfängerantwort nur schwer zu erkennen. Zur Definition des Zusammenhangs zwischen Hirntod und akuter Rejektion nach allogener Transplantation wurde in der ersten Versuchsreihe keine immunsuppressive Empfängertherapie durchgeführt. Der Einfluss des Hirntodes als Alloantigen-unabhängiger Risikofaktor wurde in weiteren Untersuchungen anhand von Isotransplantaten definiert. Als letzte Versuchsreihe erfolgte die Untersuchung chronischer Abstossungsreaktionen in Abhängigkeit vom Hirntod des Spenders.

Es zeigt sich, dass der Hirntod des Spenders die Expression einer Reihe von Adhäsionsmolekülen triggert, die Expression der proinflammatorischen Zytokine $TNF\alpha$ und $INF\gamma$ verstärkt und die Immunogenität des Organs mittels verstärkter Expression von MHC Klasse II Oberflächenmolekülen erhöht. Die erhöhte Immunogenität hirntoter Spenderorgane führte während der ersten 24 h nach Transplantation zu einer weiter signifikant höheren Expression einer Reihe von Zytokinen. Die Bestimmung von Zytokinen in definierten zeitlichen Abständen nach Reperfusion ist ein guter Marker für das Ausmaß des Reperfusionsschadens. Die gesteigerte Immunogenität der endothelialen Zelloberfläche ist zum Teil auf die massive Katecholaminfreisetzung während des Hirntodes zurückzuführen. Diese Hypothese wird durch Untersuchungen

unterstützt, welche demonstrierten, dass die Applikation von Katecholaminen in lebenden Spenderschweinen zu einer signifikanten Verschlechterung der Organfunktion nach renaler Transplantation führte (75). Im Rahmen des Hirntodes kommt es zu einer intensiven katecholaminvermittelten Vasokonstriktion, welche zur Organischämie, einem integralen Bestandteil des Phänomens Hirntod, führt (79). Die Störungen der Mikrozirkulation führen trotz ausreichenden systemischen Perfusionsdruckes zur persistierenden Organischämie bereits vor Organentnahme. Der Zusammenhang zwischen Organischämie und Funktion nach klinischer Transplantation wird zunehmend definiert (92). In einer klinischen Studie zeigte sich eine 1-Jahresfunktion von 40% bei einer warmen Ischämie von >50 min. Bei einer warmen Ischämie von <50 min reduzierte sich die 1-Jahresfunktionsrate um je 1%, wenn die warme Ischämiezeit um je eine Minute verlängert wurde. Gleichzeitig zeigte sich eine Korrelation zwischen ischämischer Schädigung und dem Auftreten akuter Abstossungsreaktionen, welche in der Gruppe der hirntoten Spender signifikant früher und ausgeprägter auftraten (93). Die Arbeitsgruppe um KOO demonstrierte den Effekt des Hirntodes auf Ischämie/Reperfusion und akute Rejektion in humanen Nierentransplantaten (50). Sowohl die Expression von Adhäsionsmolekülen als auch die neutrophile Infiltration der Organe nach Transplantation waren in der Gruppe der humanen Leichentransplantate signifikant stärker ausgeprägt. Eigene klinische Daten demonstrierten einen ausgeprägteren Reperfusionsschaden nach Lebertransplantation mit Organen hirntoter Spender im Vergleich zu entsprechenden Lebendspendertransplantaten (unpublizierte Daten). Pathophysiologisch kommt es in Folge des Ischämie/Reperfusionsschadens zu einer weiter erhöhten Expression von Adhäsionsmolekülen sowie von proinflammatorischen Zytokinen mit der Folge einer Infiltration von Granulozyten, Monozyten/Makrophagen sowie T-Lymphozyten. Insbesondere den Wachstumsfaktoren PDGF und TGF β sowie den Zytokinen MCP-1 und IL-1 scheint eine Rolle als Vermittler durch ihre mitogene und aktivierende Wirkung auf Proteine der extrazellulären Matrix zuzukommen. Die erhöhte Konzentration der potenziell profibrotischen Zytokine

ließ sich sowohl bei frühen akuten Abstossungen als auch später beim Auftreten der chronischen Rejektion nachweisen.

Experimentelle Untersuchungen in Isotransplantaten zeigten neben einer schlechteren Initialfunktion die charakteristischen Zeichen der chronischen Transplantatdysfunktion in Abwesenheit einer immunologischen Disparität. Die Veränderungen waren in Organen von hirntoten Spendern zeitlich signifikant früher und ausgeprägter im Vergleich zu Organen von Lebendspendern (94). Neben funktionellen und strukturellen Veränderungen ließ sich in Organen von hirntoten isogenen sowie allogenen Spendern eine gesteigerte Expression von profibrotischen Zytokinen und Wachstumsfaktoren nachweisen. Die Bedeutung eines initialen unspezifischen Schadens auf die Langzeitfunktion wurde vor allem in Zusammenhang mit dem Ischämie/Reperfusionsschaden untersucht. Die immunologischen Auswirkungen des Spenderhirntodes entsprechen pathophysiologisch denen nach Ischämie/Reperfusionsschäden. Vergleicht man weitergehend die Langzeitfunktion transplantierte Organe, so ähneln die morphologischen und immunologischen Veränderungen nach dem Hirntodschaden denen nach ausgeprägter ischämischer Schädigung. Als gemeinsamer pathophysiologischer Mechanismus steigert der unspezifische Organschaden die Immunogenität des Organs. Nach Transplantation kommt es zu einer verstärkten Empfängerimmunantwort, welche sowohl die Inzidenz als auch die Schwere akuter und chronischer Abstossungen beeinflusst. Die Beobachtung, dass Risikofaktoren für die Transplantatfunktion sowohl Antigen-abhängig als auch Antigen-unabhängig sind, betont die Bedeutung der Transplantatqualität.

Möglicherweise lässt sich sowohl durch eine Reduzierung Hirntod-assoziierte Schäden eine Reduktion des Ischämie/Reperfusionsschadens mit einer resultierenden verbesserten Langzeitfunktion erzielen. In diesem Zusammenhang bietet sich als mögliches Therapiekonzept die Vorbehandlung hirntoter Organspender an.

4.4 Einfluss weiterer Risikofaktoren auf die Transplantatfunktion

Als weiterer signifikanter Spender-assoziiertes Risikofaktor wurde der Hypertonus des Spenders untersucht. Der Zusammenhang zwischen Spenderhypertonus und chronischer Transplantatdysfunktion wurde von uns experimentell in dem zuvor verwendeten etablierten Nierentransplantationsmodell in der Ratte simuliert. Der Hypertonus des Spenders wurde 10 Wochen vor Organentnahme mittels der partiellen Okklusion der Arteria renalis mit einem 0.25 mm durchmessenden Silberclip induziert. Obwohl in den Spendernieren vor Transplantation keine morphologischen Veränderungen präsent waren, kam es nach Transplantation zu einem früheren und verstärkten Einsetzen der chronischen Rejektion. Molekularbiologische Untersuchungen zeigten eine erhöhte Transkription proinflammatorischer Zytokine in Spenderorganen vor der Transplantation durch die hypertensive Blutdrucklage. Die erhöhte Immunogenität vor Transplantation scheint entscheidend für die limitierte Organfunktion nach Transplantation. Es ist bekannt, dass durch die Transplantation von Nieren hypertensiver Spender die hypertensive Blutdrucklage in ehemals normotensive Spender transferiert werden kann (95). In unseren eigenen Untersuchungen sahen wir diesen Zusammenhang bestätigt. Desweiteren ist der Hypertonus des Empfängers als Risikofaktor für die Transplantatfunktion identifiziert. Die Kinetik der chronischen Rejektion ist in unserem Modell somit auf ein Zusammenwirken des Spender-spezifischen Hypertonus, als auch zum Teil auf den mit dem Transplantat transferierten Hypertonus zurückzuführen.

In weiteren Untersuchungen wurde von Kooperationspartnern die Qualität von Organen von sogenannten "non-heart-beating-donors" untersucht (96). Auch in diesen Modellen konnte die Rolle der immunologischen Aktivierung und Antigen-unabhängiger Faktoren eindeutig definiert werden. Es zeigte sich eine Zunahme der immunologischen Aktivierung mit erhöhter Expression und Transkription von Zytokinen im Spenderorgan, abhängig von der Dauer des Todes des Spenders. Dies führte nach Transplantation zu deutlich ausgeprägteren morphologischen

Veränderungen in allogenen Nierentransplantaten und zu früherem Organversagen.

4.5 Therapeutische Ansätze zur Verbesserung der Transplantatqualität

Der Hirntod des Spenders und die unter dem Begriff des „autonomen Sturms“ zusammengefassten Veränderungen führen zu einer erhöhten Immunogenität des Transplantates. Der Ausfall der regulatorischen Hirnfunktion auf die Hormonsteuerung sowie die massive Katecholaminausschüttung im Rahmen des Hirntodes begünstigen proinflammatorische Veränderungen in Organen bereits vor Transplantation. Es zeigte sich, dass sowohl akute Abstossungen als auch chronische Dysfunktionen nach Transplantation mit Organen von Leichenspendern signifikant früher auftreten. Dies ist die Konsequenz einer erhöhten Immunogenität des Leichenspender-Transplantates. Diese Effekte werden durch eine prompte Expression von Adhäsionsmolekülen und proinflammatorischen Mediatoren in Organen von hirntoten Spendern vermittelt. Der erhöhten Expression von Entzündungsmediatoren im Nierengewebe folgt eine frühzeitige und verstärkte Immunantwort des nichtsupprimierten Empfängers, welche eine intensivere initiale Abstossung triggert. Die bislang veröffentlichten Ergebnisse von Hormonersatztherapien in hirntoten Spendern sind widersprüchlich und nicht vielversprechend (70;81;97). Wir untersuchten die Effekte einer gezielten Vorbehandlung mit Steroiden und einem spezifischen Ansatz der immunologischen Spendervorbehandlung mit sPSGL. Die antiinflammatorische Potenz von Steroiden ist im klinischen Alltag bekannt und beruht neben der Proliferationshemmung immunkompetenter Zellen auf einer unspezifischen Blockade der Produktion von Zytokinen und Zellprodukten. Die effektive Hemmung zellvermittelter Inflammation nach Gabe von sPSGL wurde erstmals in Ischämie/Reperfuionsversuchen beschrieben und basiert hauptsächlich auf der Blockade von E- und P-Selektin (32;33;98). Wir zeigten in unseren Versuchen, dass die Adhäsionsmoleküle E- und P-Selektin frühzeitig nach Hirntodinduktion exprimiert werden und zur frühen zellulären Infiltration der Organe beitragen. Beide Therapieansätze waren in unseren Versuchen effektiv

in der Reduktion der zellulären und inflammatorischen Veränderungen. Nach Spendervorbehandlung ist die Funktion und das Überleben von Kadaverspenderorganen im Vergleich zu unbehandelten Organen deutlich verbessert. Unsere Ergebnisse demonstrieren deutlich, dass die Hirntod-induzierten proinflammatorischen Veränderungen in Organen von hirntoten Spendern durch immunmodulatorische Spendervorbehandlung reduziert werden können. Diese Ergebnisse legen die gezielte klinische Vorbehandlung hirntoter Spender nahe.

Ein weiterer Ansatz zur Untersuchung und Prävention des Transplantatschadens vor und nach Transplantation ist die Induktion protektiver Gene (99). Durch die erhöhte Expression von Hämoxigenase (HO-1) konnte in zahlreichen Versuchen eine verbesserte Transplantatfunktion sowohl im Kurz- als auch im Langzeitverlauf nachgewiesen werden. Unsere Arbeitsgruppe konnte die Effektivität der Behandlungsstrategie sowohl in der Prävention des Ischämie/Reperfusionsschadens als auch in der Qualitätsverbesserung von Organen marginaler Spender nachweisen. Aktuelle Untersuchungen mit der Vorbehandlung hirntoter Spender durch Induktion protektiver Gene zeigen eine deutlich verbesserte Organqualität und ein signifikant verbessertes Transplantatüberleben bei reduzierten zellulären Infiltraten (unpublizierte Daten). Die Bedeutung einer Spender-orientierten Therapie wird in diesen Versuchen, in denen keine zusätzliche immunsuppressive Therapie durchgeführt wurde, verdeutlicht.

In Kooperation mit weiteren Arbeitsgruppen wurden weitere Möglichkeiten zur Therapie des chronischen Transplantatversagens und akuter Abstossungsreaktionen untersucht. Durch die Therapie mit einer einmaligen Gabe eines Anti-CD 28 Antikörpers, welcher die CD28-B7-vermittelte Kostimulation Antigen-präsentierender Zellen blockiert, konnte in einem Rattenmodell die Ausbildung der chronischen Transplantatdysfunktion verhindert werden(100). Diese Ergebnisse zeigen die Bedeutung der Antigenerkennung bei der Entwicklung von Transplantatschäden in der initialen Phase nach Transplantation. Vergleichbare Ergebnisse nach der Gabe von CTLA4Ig, eines

Fusionsproteins, welches ebenfalls die CD28-B7-vermittelte Kostimulation blockiert, unterstützen diese Beobachtung (101).

Einen weiteren therapeutischen Ansatz stellt die Prävention der Transplantatabstossung durch Toleranzinduktion dar. In Versuchen von Kooperationspartnern zeigten Herztransplantate in einem Rattenmodell nach Induktion einer Spender-spezifischen Toleranz durch einen hämatopoetischen Chimerismus weder Anzeichen einer akuten noch einer chronischen Transplantatabstossung (102). Die angesprochenen Versuche wurden mit Lebendspenderorganen durchgeführt. Es ist unklar, ob der Faktor Hirntod und die damit verbundene immunologische Aktivierung des Transplantates mit dem Erfolg von Toleranzinduktionsprotokollen interferiert. In eigenen aktuellen Arbeiten untersuchen wir zur Zeit den Zusammenhang zwischen Toleranzinduktion und Hirntod des Spenders.

Zusammenfassung

Transplantate von nichtverwandten Lebendspendern zeigen unabhängig von der immunologischen Kompatibilität eine signifikant bessere Kurzzeit- und Langzeitfunktion im Vergleich zu Transplantaten von hirntoten Organspendern. Die Tatsache, dass das Überleben von Nierentransplantaten von nichtverwandten Lebendspendern identisch mit dem Organüberleben von verwandten Lebendspendern ist, demonstriert die Bedeutung Antigen-unabhängiger Faktoren und relativiert die Rolle von HLA-Unterschieden. Die Vermutung, dass das unterschiedliche Organüberleben nach Transplantation von Leichen- und Lebendspenderorganen auf pathophysiologischen und weniger auf genetischen Unterschieden beruht, führte zu Untersuchungen funktioneller und struktureller Veränderungen, assoziiert mit unspezifischer Organschädigung.

Unsere Untersuchungen zeigten, dass Transplantate sowohl von marginalen Spendern als auch von hirntoten Organspendern zum Zeitpunkt der Entnahme immunologisch aktiviert sind. Somit initiieren oder amplifizieren sie zum Zeitpunkt der Transplantation die Immunantwort des Organempfängers. Das potenziell aktivierte Organ provoziert eine Interaktion zwischen unspezifischen proinflammatorischen Schäden und der zum Zeitpunkt der Reperfusion einsetzenden Immunantwort. Die Trigger dieser Interaktion können Spender-assoziierte Risikofaktoren wie z.B. Alter, Hypertension, Diabetes mellitus oder die systemischen Effekte des Spender-Hirntodes darstellen. Der Hirntod stellt einen Antigen-unabhängigen Leichenspender-spezifischen Risikofaktor dar, der bislang unzureichend berücksichtigt wurde. In nahezu allen experimentellen Studien zu transplantationsrelevanten Fragestellungen dienen junge, gesunde Lebendspendertiere als Organspender, im Gegensatz zur klinischen Situation, in der überwiegend Organe hirntoter Organspender zur Transplantation zur Verfügung stehen. Der hirntote Organspender erleidet typischerweise eine plötzliche, irreversible und ausgeprägte Schädigung des zentralnervösen Systems. In Tiermodellen wurde demonstriert, dass die Funktion und Struktur

peripherer Organe durch den Faktor Hirntod signifikant beeinflusst wird und von der Genese des Hirntodes abhängt.

In einer Serie experimenteller Arbeiten wurden die Mechanismen der Schädigung und die Auswirkungen des Hirntodes auf die Transplantatqualität sowie auf das Ergebnis nach Transplantation untersucht. Diese Studien trugen wesentlich zum Verständnis des Risikofaktors Hirntod bei. Wir zeigten erstmalig in experimentellen Modellen, dass der Hirntod des Spenders den Ischämie/Reperfusionsschaden sowie die Frequenz und Intensität sowohl der akuten als auch der chronischen Abstossungsreaktion nach allogener Nierentransplantation signifikant beeinflusst. Pathophysiologisch konnte ein Prozess postuliert werden, bei dem der unspezifischen Aktivierung durch den Spender-Hirntod eine verstärkte immunologische Empfängerantwort nach Transplantation folgt. Dieser Mechanismus zeigt die enge Interaktion zwischen Antigen-unabhängigen und -abhängigen Faktoren in der Destruktion des Transplantates.

Die vorgestellten experimentellen Ergebnisse werden durch eine Reihe klinischer Untersuchungen bestätigt. Morphologische Untersuchungen nach klinischer Nierentransplantation demonstrieren anhand von Biopsien, dass die Frequenz akuter Abstossungsreaktionen nach Transplantation von Leichennieren im Vergleich zu Lebendspendernieren signifikant höher ist. Eigene klinische Untersuchungen an sequentiellen humanen Leberbiopsien bestätigen ebenfalls die experimentellen Beobachtungen.

In einem Konzept der Vorbehandlung des hirntoten Spenders wurden erste experimentelle Therapieansätze zur Optimierung der Spenderorganqualität untersucht. Hierbei zeigten sich vielversprechende Ergebnisse bei der Vorbehandlung mit Steroiden, der Blockade von Adhäsionsmolekülen und der Induktion protektiver Gene. Durch Vorbehandlungsstrategien kann die Organqualität signifikant verbessert werden, jedoch nicht der optimale Organstatus nach Lebendspende erreicht werden. Zur Zeit erfolgt die Evaluierung der Therapieansätze in klinischen Studien.

Zusammengefasst trugen unsere Untersuchungen wesentlich zu einem besseren Verständnis der Transplantatqualität bei. Unsere Befunde erklären teilweise die klinische Beobachtung, dass Transplantate von Lebendspendern trotz eines ausgeprägteren MHC-mismatches einen besseren Kurz- und Langzeitverlauf zeigen. Die Definition der durch den Spenderhirntod verursachten Veränderungen sowie deren Therapie ermöglichen eine gezielte Verbesserung der Transplantatqualität und somit des Transplantationsergebnisses.

Summary:

The ultimate goal in transplantation - to provide long-term treatment for an irreversible process - has not been achieved; the rate of attrition over time has not changed appreciably throughout the entire experience. Although recurrent disease, de novo infections, malignancies and other factors may contribute to late graft deterioration, brain death of the donor remains one of the factors which is not investigated yet.

Despite well-characterized functional and morphological changes, the mechanisms leading to chronic rejection remain poorly understood. Its pathophysiology has been conceptualized as stemming from both antigen-dependent and independent risk factors. Whereas immune-mediated events are considered to be primarily responsible for the late graft changes it appears increasingly that the influence of non-immunological events has been underestimated. This concept has been emphasized by recent pooled UNOS data which show that the survival rates of kidneys from living unrelated and one haplotype-matched living related donors are identical despite potentially important differences in genetic relationship with the given recipient. In addition, organs from all living donors demonstrate consistently superior results to those from cadaver sources over both the short-and long-term. Various non-immunological factors which might explain this striking discrepancy include the effects of initial ischemia/reperfusion injury, inadequate functioning nephron mass, viral infections and drug toxicity.

Brain death is a rarely considered risk factor uniquely relevant to the cadaver donor, the primary source of solid organs for transplantation. Such individuals have suffered extensive and irreversible central nervous system damage secondary to trauma, hemorrhage or infarction. Multivariate analysis has emphasized that both initial and long-term results of engrafted cadaver organs may be dependent upon donor demographics and the etiology of the central injury.

The observation that insults occurring around the time of organ transplantation, regardless of whether they are antigen-dependent or independent, become risk factors for late allograft failure suggests that the long-term changes may be programmed early in the process. It has been conceptualized that the events surrounding brain death, occurring before organ removal, may be important. In addition, non-specific events relating to circumstances surrounding the donor and the perfusion and storage of organs, may initiate an inflammatory response which in turn may acutely increase host immunological activity. We showed that as a consequence, organs from brain-dead donors could experience increased and more severe episodes of acute rejection after transplantation due to increased cytokine expression after brain death induction. This assumption would explain the apparent correlation noted clinically between the effects of initial delayed graft function and acute rejection episodes, as well as the different outcome of organs originating from brain-dead in comparison to living donors.

In further experiments we investigated the effects of donor treatment on the outcome and the frequency of acute rejections after kidney transplantation.

In summary our experiments partly explain the observed difference in survival and function between living- and brain-dead donor grafts. Definition and understanding of these potential alterations may suggest therapeutic approaches that could be initiated even before the transplantation procedure itself.

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------------|---|
| CD | Cluster of Differentiation |
| CD3 | CD3 positive T-Zellen |
| CD4 | CD4 positive T-Zellen |
| CD5 | CD5 positive T-Zellen |
| CD8 | CD8 positive T-Zellen |
| CD25 | CD25 positive T-Zellen |
| mRNA | Messenger Ribonukleinsäure |
| cDNA | Zyklische Desoxyribonukleinsäure |
| CyA | Cyclosporin A |
| ED1 | ED1 positive Monozyten/Makrophagen |
| sPSGL | Soluble P-Selectin-Glycoprotein-Ligand |
| F-344 | Fisher 344 Ratten |
| FasL | Fas Ligand |
| IFN γ | Interferon gamma |
| IL | Interleukin |
| LEW | Lewis Ratten |
| MCP-1 | Monocyte Chemoattractant Protein 1 |
| RT-PCR | Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction |
| TGF β | Transforming Growth Factor beta |
| TNF α | Tumor Necrosis Factor alpha |
| MAC | Membrane Attack Complex |
| NK | Natural Killer Cells |

Tierversuchsgenehmigungen

Zur Durchführung der Tierversuche am Surgical Research Laboratory der Harvard Medical School Boston, U.S.A., lagen die Genehmigungen der lokalen Behörden durch den Projektleiter, Prof. Dr. med. N.L.Tilney vor.

Für die Tierversuche, die in Kooperation durchgeführt wurden, lag eine Genehmigung des Kooperationspartners vor.

Für die Versuche, die in Berlin als verantwortlicher Versuchsleiter durchgeführt wurden, lagen die Genehmigungen G 0095/00, G0112/01 und L0105/00 der lokalen Behörde (Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit, Berlin) vor.

Danksagungen

Besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. P. Neuhaus, Direktor der Chirurgischen Klinik und Poliklinik des Virchow Klinikums, Charité, Berlin für seine stets großzügige Unterstützung meiner wissenschaftlichen und klinischen Tätigkeit, für zahlreiche Anregungen und für die Bereitstellung optimaler Arbeitsbedingungen.

Herrn Professor Dr. med. N.L. Tilney, Francis D. Moore Professor of Surgery, Direktor des Chirurgischen Forschungslabors der Harvard Medical School, Boston, U.S.A. bin ich zu großer Dankbarkeit verpflichtet. Besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. N.L. Tilney für die Überlassung des interessanten Themas und die optimale Förderung meiner wissenschaftlichen und klinischen Ausbildung. Während meiner wissenschaftlichen Tätigkeit in Boston war er mir stets ein inspirierender, kooperativer und freundschaftlicher Ansprechpartner.

Ebenso geht mein großer Dank an Herrn Privat-Dozent Dr. med. S.G. Tullius, Oberarzt der Chirurgischen Klinik und Poliklinik des Virchow Klinikums, Charité, Berlin, ohne dessen unermüdliche Hilfe und freundschaftliche Ratschläge die Durchführung der Projekte sicherlich nicht möglich gewesen wäre. Herr Privat-Dozent Dr. med. S.G. Tullius ist mir stets ein unterstützender und anregender Freund und Kooperationspartner.

Herzlichen Dank an Herrn Professor Dr. med. H.-D. Volk, Direktor des Institutes für Medizinische Immunologie, Charité, Berlin, der mich nach meiner Rückkehr nach Berlin jederzeit wissenschaftlich unterstützte und in gemeinsamen Projekten ein anregender und freundschaftlicher Gesprächspartner war.

Herrn Professor Dr. med. Hancock, Institut für Pathologie, Kinderklinik Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A., danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der histologischen und immunhistologischen Untersuchungen.

Meiner Mitarbeiterin Frau Dr. med. M. Kordic danke ich herzlich für Ihre unermüdliche Hilfe.

Stellvertretend für zahlreiche Kollegen in Klinik und Wissenschaft danke ich Herrn Privat-Dozent Dr. med. T. Steinmüller und Herrn Privat-Dozent Dr. med. S. Jonas für ihre freundschaftliche und unterstützende Mitwirkung.

Bedanken möchte ich mich bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die großzügige Unterstützung bei der Durchführung meiner wissenschaftlichen Untersuchungen.

Literaturverzeichnis

1. Starzl TE. History of clinical transplantation. *World J Surg* 2000; 24: 759.
2. Carrel A, Guthrie CC. The transplantation of veins and organs. *Am Med* 1905; 27: 1101.
3. Merrill JP, Murray JE, Harrison JH, Guild WR. Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. *JAMA* 1956; 160: 277.
4. Merrill JP, Murray JE, Harrison JH, Friedman EA, Dealy JB, Dammin GJ. Successful homotransplantation of the kidney between non-identical twins. *N Engl J Med* 1960; 262: 1251.
5. Starzl TE, Porter KA, Brettschneider L, et al. Clinical and pathological observations after orthotopic transplantation of the human liver. *Surg Gynecol Obstet* 1969; 128: 327.
6. Barnard CN. What we have learned about heart transplants. *Cardiovasc Surg* 1968; 56: 457.
7. United Network for Organ Sharing 2000 Annual Report of the U.S. Scientific registry for Transplant recipients and the Organ and Transplantation Network. UNOS Richmond 2000.
8. Transplant activities in Eurotransplant. Annual Report 2001. Eurotransplant 2001.
9. Cecka JM. The UNOS Scientific Renal Transplant Registry-10 years of kidney transplants. *Clin Transpl* 1997.
10. Gjertson DW, Cecka JM, Terasaki PI. The relative effects of FK506 and cyclosporine on short-and long-term kidney graft survival. *Transplantation* 1995; 60: 1384.
11. Tullius SG, Volk HD, Neuhaus P. Transplantation of organs from marginal donors. *Transplantation* 2001; 72: 1341.
12. Medawar PB. The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J Anat* 1944; 78: 176.
13. Gibson T, Medawar PB. The fate of skin homografts in man. *J Anat* 1943; 77: 299.
14. Anderson DC, Billingham RE, Lampin GH, Medawar PB. The use of skin grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle. *Heredity* 1951; 5: 379.
15. Gorer PA. The antigenic basis of tumour transplantation. *J Path Bacteriol* 1938; 47: 231.
16. Townsend A, Bodmer H. Antigen recognition by class I restricted T-lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 601.

17. Abbas A.; Cellular and molecular immunology.; Philadelphia;; W.B.Saunders Company, ; 1994.
18. Austyn JM, Larsen CP. Antigen uptake and presentation by dendritic leukocytes. *Semin Immunol* 1992; 4: 571.
19. Hughes CC, Savage Co, Poper JS. The endothelial cell as a regulator of T-cell function. *Imm Rev* 1990; 117: 85.
20. Dallman MJ, Wood KJ, Hamano K. Cytokines and peripheral tolerance to alloantigen. *Immunol Rev* 2002; 133: 5.
21. Dallman MJ. Cytokines as mediators of organ graft rejection and tolerance. *Curr Opinion in Immunol* 1993; 5: 142.
22. Hancock WW, Whitley WD, Tullius SG, et al. Cytokines, adhesion molecules, and the pathogenesis of chronic rejection of rat renal allografts. *Transplantation* 1993; 56: 643.
23. Shoskes DA, Parfrey NA, Halloran PF. Increased major histocompatibility complex antigen expression in unilateral ischemic acute tubular necrosis in the mouse. *Transplantation* 1990; 49: 201.
24. Shoskes DA, Halloran PF. Ischemic injury induces altered MHC gene expression in kidney by an interferon-gamma-dependent pathway. *Trans Proc* 1991; 23: 599.
25. Halloran PF BABT, Madrenas J. The molecular immunology of acute rejection: an overview. *Transplant Immunol* 1993; 1: 3.
26. Colonna M, Brooks EG, Falco M, Ferrara GB, Strominger JL. Generation of allospecific natural killer cells by stimulation across a polymorphism of HLA-C. *Science* 1993; 260: 1121.
27. Polley MJ, Nachmann RL, Weksler BB. Human complement in the arachidonic acid transformation pathway in platelets. *J Exp Med* 1981; 153: 257.
28. Adler S, Baker PJ, Johnson RJ, et al. Complement membrane attack complex stimulates production of reactive oxygen metabolites by cultured mesangial cells. *J Clin Invest* 1986; 77: 762.
29. Davies MG, Hagen PO. The vascular endothelium, a new horizon. *Ann Surg* 1993; 218: 593.
30. Ryan US. The endothelial surface and response to injury. *Fed Proc* 1986; 45: 101.
31. Platt JL, Vercelotti GM, Lindman GJ, Oegema TR, Bach FH, Dalmaso AP. Release of heparan sulfate from endothelial cells. *J Exp Med* 1990; 171: 1363.

32. Takada M, Nadeau KC, Shaw GD, Tilney NL. Prevention of late renal changes after initial ischemia/reperfusion injury by blocking early selectin binding. *Transplantation* 1997; 64: 1520.
33. Dulkanchainun TS, Goss JA, Imagawa DK, et al. Reduction of hepatic ischemia/reperfusion injury by a soluble P-selectin glycoprotein ligand-1. *Ann Surg* 1998; 227: 832.
34. Tilney NL, Whitley WD, Diamond JR, Kupiec-Weglinski JW, Adams DH. Chronic rejection - an undefined conundrum. *Transplantation* 1991; 52: 389.
35. Tullius SG, Tilney NL. Both alloantigen-dependent and -independent factors influence chronic allograft rejection. *Transplantation* 1995; 59: 313.
36. Tilney NL, Kusaka M, Pratschke J, Wilhelm MJ. Chronic rejection. *Trans Proc* 1998; 30: 1590.
37. Rose ML. Antibody mediated rejection following cardiac transplantation. *Transplantation Reviews* 1993; 7: 140.
38. Nadeau KC, Azuma H, Tilney NL. Sequential cytokine dynamics in chronic rejection of rat renal allografts: Roles for cytokines RANTES and MCP-1. *Proc Nat Acad Sci* 1995; 92: 8729.
39. Scalia R, Armstead VE, Minchenko AG, Lefer AM. Essential role of P-selectin in the initiation of the inflammatory response induced by hemorrhage and reinfusion. *J Exp Med* 2000; 189: 931.
40. Tullius SG, Nieminen M, Bechstein WO, et al. Early acute rejection episodes are reversible following retransplantation into a syngeneic donor and do not progress to chronic rejection. *Trans Proc* 1997; 29: 029.
41. Almond PS, Matas AJ, Gillingham KJ. Risk factors for chronic rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 1993; 55: 752.
42. Gulanikar AC, MacDonald AS, Sungurtekin U, Belitsky P. The incidence and impact of early rejection episodes on graft outcome in recipients of first cadaver kidney transplants. *Transplantation* 1992; 53: 356.
43. Wilhelm MJ, Kusaka M, Pratschke J, Tilney NL. Chronic rejection-increasing evidence for the importance of antigen independent factors. *Trans Proc* 1998; 30: 2402.
44. Tullius SG, Heeman U, Hancock WW, Azuma H, Tilney NL. Long-term kidney isografts develop functional and morphological changes that mimic those of chronic allograft rejection. *Ann Surg* 1994; 220: 425.
45. Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. *N Engl J Med* 1995; 333: 333.

46. Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living related donors. *N Engl J Med* 1995; 333: 333.
47. Nicholson ML, Metcalfe MS, White SA, et al. A comparison of the results of renal transplantation from non-heart-beating, conventional cadaveric and living donors. *Kidney Int* 2000; 58: 2585.
48. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Basker M, Cooper DKC, Tilney NL. Brain death and its influence on donor organ quality and outcome after transplantation. *Transplantation* 1999; 67: 343.
49. Van der Hoeven JA, Ter Host GT, Molema G, et al. Effects of brain death and hemodynamic status on function and immunological activation of the potential donor liver in the rat. *Ann Surg* 2000; 232: 804.
50. Koo DD, Welsh KI, McLaren AJ, Roake JA, Morris PJ, Fuggle SV. Cadaver versus living donor kidneys: impact of donor factors on antigen induction before transplantation. *Kidney Int* 1999; 56: 1551-1559.
51. Laskowski I, Pratschke J, Wilhelm MJ, Paz D, and Tilney NL. Non-heart-beating kidney donors. *ClinTransplant* 13, 281-286. 1999.
52. Morris PJ, Johnson RJ, Fuggle SV, Belger MA, Briggs JD. Analysis of factors that affect the outcome of primary cadaveric renal transplantation in the UK. *Lancet* 1999; 354: 1147.
53. Pratschke J, Wilhelm MJ, Laskowski I, et al. Influence of donor brain death on chronic rejection of renal transplants in rats. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2474.
54. Farmer DG, Yersiz H, Ghobrial RM, et al. Early graft function after pediatric liver transplantation: comparison between in situ split liver grafts and living-related grafts. *Transplantation* 2001; 72: 1795.
55. Terasaki PI, Cecka JM, Gjertson DW, Takemoto S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. *N Engl J Med* 1995; 333: 333.
56. Novitzky D. Detrimental effects of brain death on the potential organ donor. *Trans Proc* 1997; 29: 3770.
57. Wicomb WN, Cooper DK, Lanza RP, Novitzky D, Isaacs S. The effects of brain death and 24 hours' storage by hypothermic perfusion on donor heart function in the pig. *J Thoc Cardiovasc Surg* 1986; 91: 896.
58. Wicomb WN, Novitzky D, Cooper DK, Rose AG. Forty-eight hours hypothermic perfusion storage of pig and baboon hearts. *J Surg Res* 1986; 40: 276.

59. Novitzky D, Cooper DKC, Rose AG, Reichart B. Injury of myocardial conduction tissue and coronary artery smooth muscle following brain death in the baboon. *Transplantation* 1988; 45: 964.
60. Novitzky D, Cooper DKC, Reichart B. Hemodynamic and metabolic response to hormonal therapy in brain-dead potential organ donors. *Transplantation* 1987; 43: 852.
61. Cushing H. Some experimental and clinical observations concerning states of increased intracranial tension. *Am J Med Sci* 1905; 124: 373.
62. Power BM, van Heerden PV. The physiological changes associated with brain death: current concepts and implications for the treatment of the brain dead donor. *Anaesth Intensive Care* 1995; 23: 26.
63. Gramm HJ, Meinhold H, Bickel U, et al. Acute endocrine failure after brain death? *Transplantation* 1992; 54: 851.
64. Mertes PM. Physiology of brain death. In: *Transplantation Biology: Cellular and Molecular Aspects*, Tilney NL, Strom TB, Paul LC, eds. Philadelphia, Lippincott, 1996; 275.
65. Herijgers P, Leunens V, Tjandra-Maga TB, Mubagwa K, Flameng W. Changes in organ perfusion after brain death in the rat and its relation to circulating catecholamines. *Transplantation* 1996; 62: 330.
66. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Hancock WW, Tilney NL. Activation of donor proinflammatory genes as a consequence of brain death. *Trans Proc* 1999; 31: 1003.
67. Wilhelm MJ, Pratschke J, Beato F, et al. Activation of the heart by donor brain death accelerates acute rejection after transplantation. *Circulation* 2000; 102: 2426.
68. Takada M, Nadeau KC, Hancock WW, et al. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation* 1998; 65: 1533.
69. Van der Hoeven JA, Lindell S, Van Schilfgaarde R, et al. Donor brain death reduces survival after transplantation in rat livers preserved for 20h. *Transplantation* 2001; 72: 1632.
70. Salim A, Pantelis V, Velmahos GC, et al. The role of thyroid hormone administration in potential organ donors. *Arch Surg* 2001; 136: 1377.
71. Okamoto S, Corso CN, Nolte D, et al. Impact of brain death on hormonal homeostasis and hepatic microcirculation of transplant organ donors. *Transpl Int* 1998; 11: 404.

72. Compagnon P, Wang H, Lindell S, et al. Brain death does not affect hepatic allograft function and survival after orthotopic transplantation in a canine model. *Transplantation* 2002; 73: 1218.
73. Shivalkar B, Van Loon J, Wieland W, et al. Variable effects of explosive or gradual increase of intracranial pressure on myocardial structure and function. *Circulation* 1992; 87: 230.
74. Van der Hoeven JA, Ploeg RJ, Postema F, et al. Induction of organ dysfunction and up-regulation of inflammatory markers in the liver and kidneys of hypotensive brain dead rats: a model to study marginal organ donors. *Transplantation* 1999; 68: 1884.
75. Pienaar H, Schwartz I, Roncone A, Lotz Z, Hickman R. Function of kidney grafts from brain-dead donor pigs. *Transplantation* 1990; 50: 580.
76. Bittner HB, Kendall SW, Campbell KA, Montine TJ, Van Trigt P. A valid experimental brain death organ donor model. *J Heart Lung Transplant* 1995; 14: 308.
77. Takada M, Nadeau KC, Hancock WW, et al. Effects of explosive brain death on cytokine activation of peripheral organs in the rat. *Transplantation* 1998; 65: 1533.
78. Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Laskowski I, and Tilney NL. A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats. *Transplantation* 69(3), 427-430. 2000.
79. Powner DJ, Hendrich A, Nyhuis A, Strate R. Changes in serum catecholamine levels in patients who are brain dead. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11: 1046.
80. Bittner HB, Chen EP, Craig D. Preload-recruitable stroke work relationships and diastolic dysfunction in the brain dead organ donor. *Circulation* 1996; 94: 320.
81. Macoviak JA, McDougall IR, Bayer MF. Significance of thyroid dysfunction in human cardiac allograft procurement. *Transplantation* 1987; 43: 737.
82. Gramm HJ, Zimmerman GA, Meinhold H. Hemodynamic responses to noxious stimuli in brain dead organ donors. *Intensive Care Med* 1992; 18: 493.
83. Finkelstein I, Toledo-Pereyra LH, Castellanos J. Physiologic and hormonal changes in experimentally induced brain dead dogs. *Transplant Proc* 1987; 19: 4156.
84. Novitzky D, Wicomb WN, Cooper DK. Electrocardiographic, hemodynamic and endocrine changes occurring during experimental brain death in the Chacma baboon. *J Heart Lung Transplant* 1984; 4: 63.

85. Kolin A, Noris JW. Myocardial lesions from acute cerebral lesions. *Stroke* 1984; 15: 990.
86. Baroldi G, Di Paquale G, Silver MD. Type and extent of myocardial injury related to brain damage and its significance in heart transplantation: a morphometric study. *J Heart Lung Transplant* 1997; 16: 994.
87. Todd GL, Baroldi G, Pieper GM. Experimental catecholamine induced myocardial necrosis. *J Mol Cell Cardiol* 1985; 17 :891.
88. Mertes PM, Burtin P, Carteaux Y. Brain death and myocardial injury: role of cardiac sympathetic innervation evaluated by in vivo interstitial microdialysis. *Tranplant Proc* 1994; 26: 231.
89. Wilhelm MJ, Pratschke J, Laskowski IA, Paz D, Tilney NL. Brain death and its impact on the donor heart-lessons from animal models. *Journal of Heart and Lung Transplantation* 2000; 1: 414.
90. Bruinsma GJ, Nederhoff MG, Geertman HJ, et al. Acute increase of myocardial workload, hemodynamic instability, and myocardial histological changes induced by brain death in the cat. *J Surg Res* 1997; 68: 7.
91. Novitzky D, Cooper DKC, Rose AG, Reichart B. Injury of myocardial conduction tissue and coronary artery smooth muscle following brain death in the baboon. *Transplantation* 1988; 45: 964.
92. Tullius SG, Reutzel-Selke A, Egermann F, et al. Contribution of prolonged ischemia and donor age to chronic renal allograft dysfunction. *J Am Soc Neph* 200; 11: 1317.
93. Van Es A, Hermanns J, van Bockel JH, Persijn GG, van Hooff JP, de Graeff J. Effect of warm ischemia time and HLA (A und B) matching on renal cadaveric survival and rejection episodes. *Transplantation* 1992; 53: 823.
94. Kusaka M, Pratschke J, Wilhelm MJ, et al. Activation of proinflammatory mediators in rat renal isografts by donor brain death. *Transplantation* 2000; 69: 405.
95. Rettig R, Uber A. Hypertension and the kidney: new insights from results of renal transplantation studies. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 10: 9.
96. Laskowski IA, Pratschke J, Wilhelm MJ, et al. Early and late injury to renal transplants from non-heart-beating donors. *Transplantation* 2002; 73: 1468.
97. Harms J, Isemer FE, and Kolenda H. Hormonal alteration and pituitary function during course of brain stem death in potential organ donors. *Transplantation* 56, 363. 1993.
98. McEver RP, Moor KL, Cumminigs RD. Leukocyte trafficking mediated by selectin carbohydrate interactions. *J Biol Chem* 1995; 270: 11025.

99. Hancock WW, Buelow R, Sayegh MH, Turka LA. Antibody-induced transplant arteriosclerosis is prevented by graft expression of anti-oxidant and anti-apoptotic genes. *Nat Med* 1998; 4: 1392.
100. Laskowski I, Pratschke J, Wilhelm MJ, et al. Anti-CD28 monoclonal antibody therapy prevents chronic rejection of renal allografts in rats. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 527.
101. Najafian N, Sayegh MH. CTLA4-Ig: A novel immunosuppressive agent. *Expert Opin Investig Drugs* 2000; 9: 2147.
102. Tullius SG, Nieminen M, Bechstein WO, et al. Chronically rejected rat kidney allografts induce donor-specific tolerance. *Transplantation* 1997; 64: 158.