

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Chirurgische Klinik und Poliklinik des  
Klinikums rechts der Isar  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. H. Friess)

**Retrograde Reperfusion und Ischämie-  
/Reperfusionsschaden nach orthotoper  
Lebertransplantation im Rattenmodell:  
pathobiochemische und histopathologische Aspekte**

Christian Alexander Bald

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

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny  
Prüfer der Dissertation: 1. Priv.- Doz. Dr. E. Matevosjan  
2. Univ.-Prof. Dr. A. Kastrati

Die Dissertation wurde am 03.08.2011 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 01.02.2012 angenommen.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1</b>	<b>Einführung .....</b>	<b>8</b>
2.1.1	Aktueller Stand der Lebertransplantation .....	9
2.1.2	Indikationen zur Lebertransplantation .....	12
<b>2.2</b>	<b>Organschädigung bei und durch die Transplantation .....</b>	<b>17</b>
2.2.1	Der Ischämie- Reperfusionsschaden .....	18
2.2.2	Die Konservierung und ihre Folgen.....	19
2.2.3	Die Reperfusion und ihre Folgen.....	21
2.2.4	Leukozyten/Adhäsionsmoleküle.....	23
<b>2.3</b>	<b>Ansätze zur Verbesserung der Organqualität .....</b>	<b>26</b>
2.3.1	Konservierungslösungen.....	29
2.3.2	Organprotektion bei Lebertransplantation.....	31
2.3.3	Reperusionsstrategien .....	32
<b>2.4</b>	<b>Technik der orthotopen Rattenlebertransplantation.....</b>	<b>34</b>
<b>2.5</b>	<b>Morphologie der Rattenleber .....</b>	<b>36</b>
2.5.1	Makroskopischer Aufbau.....	36
2.5.2	Mikroskopischer Aufbau .....	39

<b>3 Fragestellung .....</b>	<b>46</b>
<b>4 Material und Methodik.....</b>	<b>46</b>
4.1 Versuchstiere.....	46
4.2 Genehmigung der Tierversuche.....	47
4.3 Versuchsgruppen (Gruppe I – IV).....	47
4.4 Die Rattenlebertransplantation.....	49
4.4.1 Explantation.....	49
4.4.2 Transplantation.....	57
4.5 Operation der Gruppe IV .....	63
4.6 Postoperative Nachsorge .....	63
4.7 Relevante Komplikationen nach Lebertranplantation .....	64
4.8 Laboranalytik (Serumchemie).....	65
4.8.1 Transaminasen (GOT/GPT).....	65
4.8.2 Bilirubin.....	66
4.8.3 Gamma-Glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GT) .....	66
4.8.4 Alkalische Phosphatase (AP) .....	66
4.8.5 Glutamatdehydrogenase (GLDH).....	67
4.9 Blutgasanalyse .....	67
4.9.1 pH-Wert.....	68
4.9.2 pCO <sub>2</sub> .....	68

4.9.3	pO <sub>2</sub> .....	68
4.9.4	Base Excess (BE) .....	68
4.9.5	sO <sub>2</sub> .....	69
<b>4.10</b>	<b>Histologie .....</b>	<b>69</b>
<b>4.11</b>	<b>Statistische Auswertung.....</b>	<b>69</b>
<b>5</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>71</b>
<b>5.1</b>	<b>Laboranalytik .....</b>	<b>71</b>
5.1.1	GOT-Verlauf .....	71
5.1.2	GPT-Verlauf .....	73
5.1.3	Bilirubin-Verlauf .....	74
5.1.4	γ-GT-Verlauf .....	75
5.1.5	AP-Verlauf .....	76
5.1.6	GLDH-Verlauf.....	77
<b>5.2</b>	<b>Blutgasanalyse .....</b>	<b>78</b>
5.2.1	pH-Werte bei Reperfusion.....	78
5.2.2	pCO <sub>2</sub> bei Reperfusion .....	79
5.2.3	pO <sub>2</sub> bei Reperfusion .....	80
5.2.4	Base Excess bei Reperfusion .....	81
5.2.5	Sauerstoffsättigung bei Reperfusion .....	82
<b>5.3</b>	<b>Histologie .....</b>	<b>83</b>

5.3.1	Nekroseart und Verteilung.....	83
5.3.2	Anzahl der Nekroseherde.....	84
5.3.3	Maximale Größe der Nekroseherde.....	85
5.3.4	Zonenaufteilung der Nekroseherde.....	86
<b>6</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>88</b>
6.1	Ziele der Forschung .....	88
6.2	Vorteile und Nachteile der Ratte als Versuchstier .....	89
6.3	Plausibilität der Ergebnisse.....	91
6.4	Eigene Kommentare zu der durchgeführten Studie.....	103
<b>7</b>	<b>Anmerkungen zur Transplantationsmedizin.....</b>	<b>105</b>
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>108</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>112</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>135</b>

# 1 Abkürzungsverzeichnis

2,3-BPG	2,3-Bisphosphoglycerat
A.	Arterie
Aa.	Arterien
AP	alkalische Phosphatase
ATP	Adenosintriphosphat
BE	Base Excess
DSO	Deutsche Stiftung Organtransplantation
EAD	early allograft dysfunction
EC	Euro Collins
ET	Endothelin
ET	Eurotransplant
ET-R	Endothelin Rezeptor
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxal-Acetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HBV	Hepatitis B Virus
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis C Virus
HTK	Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat
I/R	Ischämie- Reperfusionsschaden
ICAM-1	Intracellular adhesion molecule-1
IFN	Interferon
IL	Interleukin
INF	initial non function
IPF	initial poor function
IRAK4	interleukin 1 receptor associated kinase-4
ir-ET1	immunreaktiver Endothelinrezeptor 1
ITBL	ischemic type biliary lesion
LFA-1	Lymphozyten Funktion assoziiertes Antigen 1
LPS	Lipopolysaccharid
LTx	Lebertransplantation
Mac-1	Macrophage-1 Antigen

NK-Zellen	natürliche Killerzellen
PAF	Plättchen aktivierender Faktor
PBC	primär biliäre Zirrhose
pCO <sub>2</sub>	Kohlendioxidpartialdruck
PDF	primary dysfunction
PLC-dl	Phospholipase C-dl
PMNL	polymorph nukleare Leukozyten
PNF	primary non function
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
PSC	primär sklerosierende Cholangitis
SEB	Staphylokokkenenterotoxin B
sO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung
TLR	toll like Rezeptor
TNF	Tumor Nekrose Faktor
ULN	upper limit of normal
UW	University of Wisconsin
V.	Vene
VCI	Vena cava infrahepatisch
VCS	Vena cava suprahepatisch
VP	Vena Portae
Vv.	Venen
γ-GT	Gamma-Glutamyltranspeptidase

## 2 Einleitung

### 2.1 Einführung

Die erste Lebertransplantation (LTx) wurde im Jahre 1963 von *Thomas E. Starzl* in Denver durchgeführt (207). Aber erst 1967 konnte die erste erfolgreiche humane Lebertransplantation durchgeführt werden. In den Jahren 1968 und 1969 berichteten *Sir Roy Calne* in Cambridge und *A. Gütgemann* in Bonn über gelungene Lebertransplantationen. Nach weiteren Erfahrungen in der klinischen Nierentransplantation und experimentellen Lebertransplantation transplantierte *R. Pichelmayr* 1972 die erste Leber in Hannover (18,19,156,157,174). Seither hat sich die Lebertransplantation als Methode zur Behandlung für irreversible Lebererkrankungen als ein standardisiertes Verfahren weiterentwickelt und etabliert (204,205,206).

Dieser Fortschritt war nur möglich auf Grund verschiedener Entwicklungen und Verbesserungen im Bereich der Transplantationsmedizin. So wurde 1978 von *Calne* zum ersten mal Cyclosporin A an Transplantationspatienten verabreicht nachdem im Tierexperiment gezeigt wurde, dass durch dieses Medikament eine Verbesserung der Überlebenszeiten bei Nierentransplantationen erreicht werden konnte (23).

Im Bereich der chirurgischen Technik gab es verschiedene Entwicklungen. So konnte das operative Risiko durch die Einführung eines extrakorporalen Bypass-Systems in der anhepatischen Phase reduziert werden bzw. durch die Entwicklung der sog. Piggy-Back-Technik eine Bypassanlage überflüssig gemacht werden (114,130).

Eine Notwendigkeit für die Transplantationschirurgie war die Entwicklung der Organkonservierung, um überhaupt eine Organübertragung bzw. einen Organtransport zu ermöglichen bzw. die Ischämiezeit zu verlängern (91).

Durch die zunehmenden Erfahrungen mit Transplantationen sowie durch die Erfolge unterlagen der Operationszeitpunkt für eine Lebertransplantation, die Operationstechnik, sowie die Operationsindikationen immer einem Wandel.

Trotz der Entwicklungen in der Transplantationsmedizin stehen

weltweit nicht genügend Organe für potentielle Empfänger zur Verfügung. So wurden im Jahre 2009 in Deutschland 1118 Lebertransplantationen durchgeführt während im gleichen Zeitraum 1853 neue Patienten auf die Warteliste für eine Lebertransplantation aufgenommen wurden (41).

Dieser Organmangel motiviert zur Erforschung und Weiterentwicklung der Transplantationsmedizin, damit mehr marginale Organe besser transplantiert werden können.

Die Forschung beinhaltet das Management von marginalen Organen und Organkonservierung, die Entwicklung von Leberersatzverfahren (Möglichkeit der Leberregeneration, um eine LTx zu verhindern, Überbrückung (*Bridging*) bis zur Transplantation mit einem geeigneten Organ), Verbesserung der Splitlebertransplantation und Ausbau der Leber-Lebendspende (*Living donor*) um Kindern überhaupt eine nötige Transplantation zu ermöglichen.

Durch die Weiterentwicklung und Verbesserung der Medizin im Allgemeinen werden andererseits auch Krankheiten durch eine Transplantation therapierbar für die es früher keine Behandlungsmethode gab. Und so steigt die Zahl der potentiellen Organempfänger auf den Wartelisten und die damit verbundene Wartezeit auf ein Organ. Auf der anderen Seite führen die medizinischen Entwicklungen auch zu einer Verschiebung der Transplantationsindikationen. So verliert die Zirrhose auf Grund einer Hepatitis B (HBV) als Indikation zur Lebertransplantation in Deutschland an Bedeutung, da der Schutz der Bevölkerung durch die Impfung gegen HBV zum Tragen kommt. Zum anderen werden die Indikationen zur Lebertransplantation bei Lebertumoren neu definiert und erweitert (22,24,200,212).

## **2.1.1 Aktueller Stand der Lebertransplantation**

### **2.1.1.1 Orthotope Lebertransplantation**

Die orthotope Lebertransplantation mit einem Organ eines hirntoten Spenders stellt heute die Standardmethode dar. Hierbei wird dem leberkranken Patienten die eigene Leber entfernt und die Leber des Spenders an anatomisch gleicher Stelle transplantiert. Für die Durchführung dieser Operation gibt es verschiedene Möglichkeiten, die sich in Bezug auf die Anastomosentechniken

sowie die Reihenfolge der Anastomosen und die Freigabe der Durchblutung unterscheiden. Bei der orthotopen Technik gibt es 2 unterschiedliche Methoden.

- Ersatz der Leber mit *Vena cava*- Segment.

Bei Implantation mit *Vena cava*-Ersatz erfolgt zunächst die Anastomosierung der suprahepatischen *Vena cava* und im Anschluss daran die infrahepatische *Vena cava* in End-zu-End- Technik. Danach werden die Pfortader, die Leberarterie und der Gallengang anastomosiert. Diese Technik kann mit oder ohne Verwendung eines veno-venösen-Bypasses durchgeführt werden. Ohne Bypass kommt es zu einer relevanten Blutstauung in den Nieren und im venösen Abflussgebiet der unpaaren Bauchorgane, was zu einer deutlichen Erhöhung eines behandlungsbedürftigen Nierenversagens postoperativ führt (145). Demgegenüber steht, dass ohne Anlage eines Bypasses kürzere anhepatische Zeiten bei der Operation erreicht werden können. Ein veno-venöser Bypass verhindert hämodynamische Störungen während der anhepatischen Phase, stellt eine Nierenprotektion sowie eine Stabilisierung für den Kreislauf dar. Die Verwendung eines Bypasses hat aber auch Nachteile. So wird die OP-Zeit verlängert und es werden in bis zu 30% der Fälle Bypass-spezifische Komplikationen wie Thrombosen mit konsekutiver Lungenembolie oder ein Postreperfusionssyndrom beobachtet (76).

- Operation in *Piggy-Back*-Technik.

Bei der Implantation ohne *Vena cava*-Ersatz wird während der Operation die *Vena cava* des Empfängers nicht mit reseziert. Bei der explantierten Spenderleber, bei der auch hier das retrohepatische *Vena cava*-Segment mitgenommen wird, wird die infrahepatische *Vena cava* durch eine fortlaufende Naht blind verschlossen. Der Bereich der Mündung der Lebervenen in die suprahepatische *Vena cava* des Spenders wird so präpariert, dass er später an die Venenmündung der Lebervenen des Empfängers anastomosiert werden kann. Danach werden ebenso die Pfortader, die Leberarterie und der Gallengang verbunden.

Bei der OP mit *Piggy-back*-Technik ist eine Bypassverwendung mit all ihren potentiellen Komplikationen nicht nötig. Durch diese Technik wird eine

Verkürzung der warmen Ischämieperiode erreicht und es kommt durch den noch möglichen venösen Abfluss aus dem unteren Stromgebiet zu weniger postoperativen Nierenversagen als bei der Operation mit *Vena cava*-Resektion und ohne Bypass (88).

Eine weiterentwickelte *Piggy-back*-Technik ist die OP nach *Belgithi*

Diese Technik kann verwendet werden wenn die Anastomose der Lebervene des Spenderorgans an die des Empfängers nicht möglich ist. Hier wird die Empfänger *Vena cava* nur seitlich ausgeklemmt, was keine Konsequenz auf den Cavafluss hat. Die Empfänger *Vena cava* wird dann Seit-zu-Seit mit der Spender *Vena cava* anastomosiert. Bei dieser Technik kann auch auf eine retrocavale Dissektion verzichtet werden und sie benötigt auch nur eine cavale Anastomose, was auch hier zu einer Reduzierung der anhepatischen Periode führt (11).

Untersuchungen haben gezeigt, dass bei der nach *Belgithi* modifizierten OP-Technik nicht nur signifikant kürzere Implantationszeiten erreicht werden, sondern es wurden auch weniger Blutprodukte benötigt als bei den anderen OP-Techniken. Es waren weniger Re-Operationen auf Grund intraabdomineller Nachblutungen nötig und die Patienten konnten deutlich früher extubiert werden. Da hier auch auf einen Bypass verzichtet werden kann, werden alle Komplikationen, die mit einem Bypass verbunden sind, eliminiert und die Kosten für einen Bypass eingespart (115).

### **Leber-Lebendspende (Living donor)**

Die Leber-Lebendspende wurde im Rahmen der Splitlebertransplantation entwickelt, da es für Kinder nicht genug geeignete Organe gibt. Bei dieser Art der Transplantation wird einem Erwachsenen ein Teil seiner Leber entnommen und im Anschluss daran meist dem eigenen Kind transplantiert. Diese Transplantationsmethode kann angewendet werden, wenn der Spender völlig gesund ist, der Teil der gespendeten Leber groß genug für das Kind ist und zugleich die Restleber des Spenders ausreichend Volumen besitzt, um die Leberfunktion des Spenders aufrecht erhalten zu können. Die Körpergewicht-Transplantat – Relation der Restleber sollte 0,8% dabei nicht unterschreiten, da

sonst die Gefahr eines sog. *Small-for-Size-Syndroms* besteht (16). Diesem liegt ein zu hoher Pfortaderfluss mit resultierender kompensatorischer Verminderung der arteriellen Perfusion und entsprechender Hypoxie zugrunde. Es kann eine Leberinsuffizienz auftreten und die Letalität steigen. Auch bei geeigneter Restgröße der Spenderleber muss klar sein, dass der Spender sich einer relativ großen Leberresektionsoperation unterzieht mit all ihren Risiken und Gefahren, die solch eine große Operation in sich birgt (79).

### **Splitlebertransplantation (Leberteiltransplantation)**

Bei der Splitlebertransplantation wird die Leber eines hirntoten Spenders (*in-* oder *ex vivo*) in 2 Teile getrennt. Der kleinere Teil, meist der links laterale Teil (Segment II und III), wird einem Kind und der größere Teil einem Erwachsenen transplantiert. In Frage kommen bei dieser Art der Transplantation nur Organe, die in sehr gutem Zustand sind und bei denen die Ischämiezeit bis zur Implantation gering gehalten werden kann. Die Aufteilung in einen anatomischen rechten und linken Leberlappen für 2 erwachsene Empfänger hat sich in der postmortalen Organspende im Gegensatz zur Lebendspende nicht bewährt, da hier vermehrt Komplikationen und schlechtere Überlebenszeiten beobachtet wurden (15,59).

#### **2.1.1.2 Heterotope Lebertransplantation**

Eine heterotope Lebertransplantation spielt derzeit klinisch keine Rolle. Bei dieser Methode wird die Leber zur Unterstützung der eigenen kranken Leber an einer anderen Stelle im Körper eingesetzt.

#### **2.1.2 Indikationen zur Lebertransplantation**

Eine Lebertransplantation ist immer dann eine nötige Behandlungsoption, wenn bei einem Patienten eine akute oder chronische Leberschädigung vorliegt, die trotz aller konservativen Behandlungsmethoden progredient verläuft und nicht weiter therapierbar ist. Die Vergabe der Spenderorgane wird von Eurotransplant (ET) organisiert und durchgeführt. Die Dringlichkeit einer Lebertransplantation wird mit dem *MELD-score* (model for endstage liver disease“) erfasst, der 1998

vom „US Department of Health and Human Services“ festgelegt wurde und den bis zu diesem Zeitpunkt gültigen *Child-Turcotte-Pugh*-score ersetzt (30,168).

#### Häufigste Ursachen eines akuten Leberversagen als Indikation für eine LTx

- Virushepatitiden (Hepatitis B, C, und E)
- Medikamentös-toxische Ursachen ( Paracetamol, Knollenblätterpilze, Kava-Kava, Ecstasy, rezidivierende Halothan-Expositionen, Tetrachlorkohlenstoff etc.)
- Idiopathische Ursache (kryptogenes Leberversagen)
- Morbus Wilson
- Autoimmunhepatitis
- Budd-Chiari-Syndrom (Verschluß der Lebervenen)
- Schwangerschaftsassozierte Lebererkrankungen
- Frühes Transplantatversagen nach LTx (sog. INF= initial non function z.B durch Leberarterienthrombose)
- Lebertrauma Grad V-VI (133)

#### Häufigste Indikationen bei chronischen Lebererkrankungen

- Alkoholische (nutritiv-toxische) Zirrhose
- Virushepatisch bedingte Zirrhose (HBV, HCV)
- Cholestatische Lebererkrankungen (primär sklerosierende Cholangitis (PSC), primär biliäre Zirrhose (PBC), sekundär biliäre Zirrhose, Gallengangsatresie)
- Zirrhose bei Autoimmunhepatitis
- Metabolische Erkrankungen (Hämochromatose, Morbus Wilson, Alpha-1-Antitrypsin-Mangel)

- Seltene Indikationen (Morbus Osler mit intrahepatischen Shunts, Oxalose, Amyloidose, Budd-Chiari-Syndrom, familiäre Amyloidose, polyzystische Leber-Nierendegeneration, Caroli-Syndrom (zystische Dilatation der intrahepatischen Gallenwege))
- Retransplantationen (akute/ therapierefraktäre Abstoßung, ischemic type biliary lesion (ITBL), Leberarterien-Thrombose, Rezidiv der Grunderkrankung)
- Kryptogene Leberzirrhose (unklare Ätiologie)

#### Indikationen zur LTx bei Lebertumoren

- Hepatozelluläres Karzinom (HCC) in Zirrhose innerhalb der Mailand-Kriterien (ein Knoten mit einem max. Durchmesser von 5 cm oder max. 3 Knoten, von denen der größte Knoten max. 3 cm misst, keine Lymphknotenmetastasen, keine Gefäßinvasion, keine Fernmetastasen)
- Hepatoblastom (bei Kindern)
- Lebermetastasen neuroendokriner Tumoren (streng individuelle Indikationsstellung)
- Selten: multiple nicht resektable Leberadenome, Hämangioendotheliome

Die orthotope Lebertransplantation stellt heute für Patienten mit im Endstadium befindlichen Lebererkrankungen immer noch die einzige Überlebenschance dar.

Zu Beginn der Lebertransplantationen betrug die 1-Jahres-Überlebenszeit nur 30%. Heute liegt sie bei über 90%, wobei das Organüberleben auf Grund von notwendigen Retransplantationen ca. 5-7% unter der Überlebenszeit der Patienten liegt (155,205). Trotz der verbesserten Operationstechniken und der Optimierung der Immunsupprimierung im Rahmen der Transplantation kann es heute noch zu erheblichen Problemen und Störungen kommen.

In bis zu 22-23% der Lebertransplantationen kommt es zu einer sog. *primary dysfunction* (PDF) bzw. *early allograft dysfunction* (EAD) und in bis zu 6% der Fälle zu einer *primary non function* (PNF) (40,155,159). Diese PNF stellt für den

Empfänger eine lebensbedrohliche Situation dar und erfordert eine sofortige Retransplantation. Die PNF eines transplantierten Organs ist mit der Hauptgrund für die Morbidität und Mortalität nach Lebertransplantationen (80,159). Es konnte auch gezeigt werden, dass eine initiale schlechte Organfunktion = *initial poor function* (IPF) das Risiko einer frühen starken Abstoßungsreaktion erhöht. So kam es bei 35,7% der Patienten, die eine IPF hatten zu einer steroidresistenten Abstoßung. Bei Patienten mit initialer guter Organfunktion war eine Abstoßung nur bei 12,7% zu beobachten. Desweiteren wurde festgestellt, dass eine lange Organkonservierung zu einem Anstieg von Tumor Nekrose Faktor (TNF) -Rezeptoren, E-Selectin und Laminin während der Reperfusion führt und das war vorraussagend für die Entwicklung einer akuten Abstoßungsreaktion (135).

Zu einem Organversagen bzw. einer Nichtfunktion nach der Transplantation kommt es durch verschiedene Risikofaktoren:

- der Aufenthalt des Spenders auf der Intensivstation länger als 3 Tage
- ein Spenderalter über 49 Jahre
- eine kalte Ischämiezeit der Leber von mehr als 18 h
- eine Leberverfettung des Spenders von über 30% (führt in bis zu 25% zur PNF) (136)
- eine zu kleine Leber für den Empfänger
- eine Niereninsuffizienz vor der Lebertransplantation
- eine Hypernatriämie von >155mmol/l beim Spender (159).

Es können aber auch operationstechnische Probleme wie z.B. ein Leberarterienverschluß der Grund für eine PNF sein und dadurch eine Retransplantation nötig werden (22,217).

Unter den Indikationen für eine Retransplantation belegt die Thrombose der Leberarterie mit 31,6% den ersten Platz, gefolgt von dem Wiederauftreten der Grundkrankheit, z.B. Rezidiv einer Hepatitis C- Leberzirrhose mit 30,4%. Die

PNF ist für 21,5% der Retransplantationen verantwortlich (217).

Da heute, neben den oben genannten Problemen, ein drastischer Organmangel vorliegt, werden verschiedene Ansätze verfolgt, um auch sog. marginale Organe für eine Transplantation zu verwenden, sowie ihre Organfunktion nach Transplantation zu verbessern (134).

Als marginale Organe werden Spenderorgane bezeichnet, die folgende Eigenschaften aufweisen:

- Spenderalter > 65 Jahre
- Verfettung der Spenderleber
- Spender BMI > 30
- Hybernatriämie > 155 mmol/l
- Aktive oder durchgemachte Hepatitis-B-Infektion (Anti-HBc positiv)
- Hepatitis-C-positiver Spender
- Kalte Ischämiezeit > 14 h
- Sepsis mit positiver Blutkultur
- Drogenabhängigkeit
- Intensivtherapie/ Beatmung länger als eine Woche
- Erhöhte Leberwerte (Transaminasen > 3x ULN (Upper Limit of Normal); Bilirubin > 3mg/dl) (17,136,144,167,181,198)

## 2.2 Organschädigung bei und durch die Transplantation

Bei einer Lebertransplantation kommt es zu einer unvermeidbaren Organschädigung. So führt die Manipulation an der Leber bei der Organentnahme zu einer Aktivierung der *v. Kupffer-Zellen* und so zu einer Schädigung des Organs (182). Die Leber wird auch durch die Organkonservierung, die kalte Ischämiezeit und durch die warme Ischämieperiode während der Implantation geschädigt (80,93,161) .

Der Zustand der Leber des Spenders ist ebenso für den Erfolg der Transplantation verantwortlich. So tolerieren Organe, die eine histologisch gesicherte Verfettung von über 30% aufweisen, eine kürzere Ischämiezeit und der Erfolg der Transplantation ist gefährdet (147). Liegt weiterhin eine Kombination von 2 Kriterien für ein marginales Organ vor, so hat dies einen besonders negativen Einfluß auf die Organfunktion und das Empfängerüberleben nach Transplantation (7,198).

Durch den Eintritt des Hirntodes beim Spender können verschiedene Regelmechanismen im Körper nicht mehr aufrechterhalten werden. Unter anderem wird das Elektrolytgleichgewicht gestört. So kommt es bei einer Hypernatriämie zu einer Störung des Ionenpotentials der Zellen sowie zu einer ödematösen Schwellung der Hepatozyten, was ebenfalls zu einer Organschädigung führen kann. So sollte die Zeit auf der Intensivstation vor Organspende nicht zu lange sein und eine Elektrolytstörung kontinuierlich ausgeglichen werden (198,218).

Calcineurininhibitoren sind die hauptsächlich verabreichten Immunsuppressiva nach Transplantationen. Obgleich dies sehr hilfreiche Medikamente zur Protektion der Organabstoßung sind, sind sie auch kritisch für das Langzeitergebnis nach der Transplantation zu werten. Es gibt eine Menge an unerwünschten Nebenwirkungen wie Nephro- und Neurotoxizität bei den Empfängern, die eine Änderung in der Immuntherapie nach einer Lebertransplantation nötig machen (43,117). Durch Probleme mit der immunsuppressiven Therapie, die heutzutage noch ein klinisch relevantes Problem darstellt, kommt es bei Patienten nach LTx mit einer Inzidenz von 20 –

70% zu einer akuten Abstoßungsreaktion trotz initial adäquater Immunsuppression (142).

Eine Lebertransplantation ohne Immunsuppression würde das Risiko einer Reinfektion mit Hepatitisviren reduzieren und viele, mit der Langzeiteinnahme von Immunsuppressiva assoziierten Komplikationen wie Diabetes mellitus, erhöhter Blutdruck, erhöhte Blutfettwerte würden vermieden werden. Aber auf Grund der zu erwartenden Abstoßungsreaktion mit drohendem Organverlust ist dies nicht möglich.

## **2.2.1 Der Ischämie- Reperfusionsschaden**

### **2.2.1.1 Die Ischämie und ihre Folgen**

Bei der Organentnahme wird die Nährstoff- und Sauerstoffzufuhr durch die Perfusion der Konservierungslösung unterbrochen. Der Stoffwechsel der Hepatozyten läuft aber trotzdem weiter und so verarmen die Zellen progredient an *Adenosintriphosphat* (ATP).

Der Verlust der Sauerstoffversorgung nach der Unterbrechung der Blutzufuhr bei Organentnahme zwingt zur Umstellung von aerober auf anaerobe Energiebereitstellung. Diese wird durch Glykolyse sichergestellt, welche im Gegensatz zur aeroben Energiegewinnung jedoch nur noch 2 mol ATP pro mol Glukose liefert. Das aus *Pyruvat* anfallende *Lactat* kann in Abwesenheit von Sauerstoff nicht weiter verstoffwechselt werden, so dass eine Gewebsazidose resultiert. Mit Verschiebung des Säure-Basen-Haushaltes aus dem optimalen in den sauren pH-Bereich kommt es zur Abnahme der Aktivitäten der Glykolyseenzyme und schließlich zum Ausfall der Glykolyse (97).

Es konnte gezeigt werden, dass durch eine 2- stündige Anoxie der ATP- Gehalt um 85% fällt und es dabei zu einem pH- Abfall im Gewebe von 7,41 auf 7,06 kommt (57). Der daraus resultierende Zusammenbruch der Energieversorgung durch ATP führt zum Ausfall ATP-abhängiger Prozesse (95).

Da die ATP-Bildung durch oxidative Phosphorylierung im Zytochromsystem der Mitochondrien nicht mehr stattfinden kann und das noch vorhandene ATP schnell aufgebraucht ist, fehlt den energieabhängigen Ionenpumpen ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -

Pumpe, Ca<sup>2+</sup>-Pumpe) das ATP zur Aufrechterhaltung ihrer Funktionen in deren Folge die transmembranären Gradienten von Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium verloren gehen (27,33,57,169). Die Hemmung der Ionenpumpen durch den Energiemangel führt zu einem intrazellulären Na<sup>+</sup>- und Ca<sup>2+</sup>-Anstieg und somit zur Senkung des Membranpotentials (57,169).

Mit dem Einstrom von extrazellulärem Natrium und Chlorid in die Zelle und ansteigendem intrazellulären osmotischen Druck folgt Wasser in die Zelle mit konsekutiver Zellschwellung und weiterer Zellschädigung (27,70,13,67). Durch den Einstrom von extrazellulärem Calcium werden Proteasen und Phospholipasen aktiviert und es kommt zur Schädigung der Protein- und Zytoskelettintegrität und somit zur weiteren Zellschädigung (12,14,28,50).

Die Oxidation von Proteinen der Zellmembran endet in Membranintegritätsstörungen, die mit gesteigerter Permeabilität und Funktionsverlust einhergehen und einen besonders kritischen Punkt in der Ischämiephase darstellen (29,49,55,62). Membranschäden mit veränderten Permeabilitäten führen zu weiteren Elektrolytverschiebungen, die zu Veränderungen der elektrischen Potentiale über der Zell- sowie Mitochondrienmembran führen, wodurch zelluläre Enzymaktivitäten beeinträchtigt werden (113). Durch den Energiemangel kommt es auch zu einer Akkumulation von Hypoxanthin, da die Xanthin-Dehydrogenase durch proteolytische Enzyme zur Xanthin-Oxidase konvertiert wird (47,120,210,242). Die Xanthin-Oxidase produziert reaktive Sauerstoffradikale die eine wichtige Rolle bei der Pathogenese des ischämie-induzierten Gewebes Schadens spielen (242).

### **2.2.2 Die Konservierung und ihre Folgen**

Eine der wichtigsten Maßnahmen zur Reduzierung des Ischämie-Reperfusionsschadens und zur Ermöglichung der Organkonservierung ist die Kühlung des Transplantats in Eiswasser. Ohne Kühlung, bei Normothermie, erleidet die Leber schon nach 10-12 min irreversible Schäden infolge des Sauerstoffmangels (236). Infolge einer Abkühlung um 10°C zeigen die meisten Enzyme eine 1,5- bis 2-fache Verringerung ihrer Aktivität, was eine Herabsetzung der Stoffwechselaktivität auf ca. ein

Zwölftel bei einer Abkühlung auf 1°C bedeutet (13). Durch die Abkühlung auf 4°C und den dadurch reduzierten Stoffwechsel und Energieverbrauch können die Auswirkungen der Hypoxie-bedingten Schädigung zu einem gewissen Teil kompensiert werden. Der ATP-Verbrauch wird gedrosselt und das intrazelluläre ATP hält länger vor (199). Bei warmer Ischämie zeigt sich ein Abfall des ATP-Gehalts um 87% bereits nach 120 min. Ferner gelingt die Regeneration des ATP um so schlechter, je länger die Dauer der warmen Ischämie bei Transplantation einer Leber dauert (93).

Bei der hypothermen Organaufbewahrung kommt es zu einer geringeren Konversion der *Xanthin-Dehydrogenase* zur *Xanthin-Oxidase*. Bei der anschließenden Wiedererwärmung im Rahmen der Reperfusion entstehen dann auch weniger Sauerstoffradikale. So kommt es zu einer geringer ausgeprägten Leukozyten- und Thrombozytenadhäsion. Die anaerobe Glykolyse und die Laktatbildung werden ebenso reduziert und somit die intrazelluläre Azidose gemindert (225). Zum anderen aber verstärkt die hypotherme Organkonservierung die Zellschädigung, da sie die in der Zellmembran lokalisierten Ionenpumpen zusätzlich verlangsamt und damit die intrazelluläre Ödembildung auf Grund des beeinträchtigten Membranpotentials begünstigt (169).

Ein weiterer Schädigungsmechanismus durch die kalte Konservierung ist die vermehrte Expression der mitochondrialen Phospholipase C-dl (*PLC-dl*). Diese Lipase regelt die  $Ca^{2+}$ - Aufnahme der Mitochondrien. Durch eine vermehrte Expression kommt es zu einem vermehrten  $Ca^{2+}$  Einstrom und so zu einer ausgedehnten Mitochondrienschädigung (102).

Durch eine ausgedehnte kalte Konservierung der Leber kommt es weiterhin zu einer erhöhten Freisetzung von TNF- $\alpha$  und dadurch zu einer Aktivierung von polymorph nucleare leucozyten (PMNL) nach der Reperfusion, was wiederum zu einer Organschädigung führt (96). Aber während einer kalten Ischämie laufen diese Aktivierungsprozesse durch die herabgesetzte Enzymaktivität langsamer ab, so dass sich die Ischämietoleranz des einzelnen Organs während kalter und warmer Ischämie erheblich unterscheidet. Je nach Organ zeigt sich ein Ischämietoleranzintervall bei der kalten Ischämie von bis zu 16

Stunden ohne dass erkennbare Spätfolgen auftreten (161). Bei einer warmen Ischämie treten jedoch schon nach wenigen Minuten (>30 min) nachhaltige Schäden auf, die veranlassen dass diese Zeit während einer Operation möglichst kurz gehalten werden muss (72,173).

### **2.2.3 Die Reperfusion und ihre Folgen**

Während der Reperfusion entstehen nun bei der Oxidation von Hypoxanthin zu Xanthin und von Xanthin zu Harnsäure freie Sauerstoffradikale die zelluläre und mitochondriale Membranen angreifen und zur Schädigung von Hepatozyten und sinusoidalen Endothelzellen führen (2,39,106,123,151). Durch die Sauerstoffradikale werden *v. Kupffer-Zellen* aktiviert, welche ihrerseits Entzündungsmediatoren wie Zytokine und weitere freie Sauerstoffradikale ausschütten und so die Schädigung verstärken (83). Die durch die *v. Kupffer-Zellen* induzierten Sauerstoffradikale können auf Grund des Energiemangels nicht adäquat eliminiert werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass *v. Kupffer-Zellen* hauptsächlich Sauerstoffradikale generieren und so für die Organschädigung in der Initialphase der Reperfusion nach kalter Organkonservierung verantwortlich sind (195).

Desweiteren führen die Sauerstoffradikale zur Aktivierung und Infiltration von hauptsächlich polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten. Die Leukozyten binden an die Endothelzellen und sammeln sich in den Lebersinusoiden an (65,105,228). Es konnte gezeigt werden, dass die Inaktivierung der *v. Kupffer-Zellen* die Leber vor einem Ischämie- Reperfusionsschaden (I/R) schützt (83).

Durch die Ischämie und die anschließende Reperfusion treten, besonders bei marginalen Spenderorganen, Gewebeschäden auf, die nicht selten mit einer Organdysfunktion auf Grund entzündlicher Aktivierung des Transplantats auf zellulärer und molekularer Ebene einhergehen. Es kommt zu einer inadäquaten Aktivierung der *v. Kupffer-Zellen* (116).

Durch die Ischämie und die Reperfusion im Rahmen einer Lebertransplantation kommt es zur Modifizierung und Hochregulation von Genen, die sonst nicht exprimiert werden. Darunter gibt es Gene, die für Apoptose, Entzündungsreaktionen und Adhäsionsmoleküle sowie für Integrine und *heat-*

*shock Proteine* verantwortlich sind (36). Ein erhöhter Spiegel von TNF verstärkt die Aktivierung der *v. Kupfer-Zellen* und so kommt es zu einer vermehrten Freisetzung von Sauerstoffradikalen, was zu einer vermehrten Ansammlung von Neutrophilen führt und der Grund für den Zellschaden in der initialen Phase der Reperfusion ist (196). Trotz der Schädigung durch die induzierten Mechanismen beendet die Reperfusion die Ischämie. Bis zu einer gewissen Zeit sind diese Schäden reversibel. Wird aber eine spezifische Ischämietoleranz überschritten, so folgt nach dem Zusammenbruch des Zellstoffwechsels das Absterben der hypoxischen Zelle (187).

Durch die Reperfusion wird der Blutfluss wiederhergestellt, das Gewebe somit wieder mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt. Angefallene toxische Metabolite werden abtransportiert und es stellt sich wieder ein physiologischer pH-Bereich ein. Die Wiederaufnahme von Enzym- und Zellfunktionen setzt ein. Somit ist die Reperfusion essentiell für die Erholung und Funktionsaufnahme des Lebergewebes. Reichen die Enzym- und Zellfunktionen und die gebildete Energie nicht aus um die anfallenden Giftstoffe bzw. aggressive Radikale zu beseitigen, steigen diese toxischen Stoffe weiter an und der Schaden dehnt sich aus. Diese weiterführende Schädigung des Transplantats wird als „sekundärer Schaden“ nach der Organtransplantation bezeichnet. Die Reperfusion selbst triggert jedoch eine Vielzahl weiterer potentieller Schädigungsmechanismen. So werden durch die Reoxygenierung freie toxische Sauerstoffradikale gebildet (123). Dieser Anstieg von freien Radikalen bzw. der Radikalenaktivität war bei Patienten mit vergleichsweise schlechtem Transplantationsergebnis deutlich höher als im Vergleich bei Patienten mit gutem Transplantationsergebnis. Freie Radikale und ihre Aktivität steigen nach der Reperfusion bei einer Lebertransplantation an und das Ausmaß dieses Anstiegs steht in direkter Beziehung zum Schweregrad der Organdysfunktion (20).

## 2.2.4 Leukozyten/Adhäsionsmoleküle

Aus den bisherigen tierexperimentellen Arbeiten ist bekannt, dass das Ausmaß der Mikrozirkulationsstörung direkt mit der Funktionsstörung des Transplantates korreliert (164,165,166). Als Hauptkomponenten findet man eine Störung der Leukozyten-Endothelzellinteraktion, Desintegration des Endothels sowie mikrozirkulatorische Flußstörungen (226,227). *Vollmar et al.* konnten zeigen, dass Leukozyten- Endothelinteraktionen und Leukozytenextravasation insbesondere aus den postsinusoidalen Venolen heraus erfolgt, deren Ausmaß direkt mit der Leberzellschädigung, gemessen an den freigesetzten Transaminasen, korreliert (227).

Die sinusoidalen Randzellen und die Endothelzellen sind sehr anfällig für ischämische Schädigungen und für mechanische Belastungen wie den Perfusionsdruck, der bei Störungen der Mikrozirkulation ansteigt. Der Parenchymzellschaden ist zum großen Teil auch eine Folge dieser Sinusoidalschädigung (32,33,125).

Desweiteren zeigten Untersuchungen, dass durch den I/R vermehrt Adhäsionsmoleküle an der Oberfläche der Endothelzellen exprimiert werden, an die dann Leukozyten adhären (64,209). Die Aktivierung von Endothel und Leukozyten setzt eine Kaskade in Gang, an deren Anfang die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine wie *TNF- $\alpha$* , *Interleukin-1* (IL-1) und *Interleukin-6* (IL-6) steht (234).

Diese Zytokine führen zu einer weiteren Leukozytenakkumulation und zu deren Aktivierung, welche wiederum eine vermehrte Freisetzung von Proteasen, Zytokinen und Sauerstoffradikalen zur Folge hat. Die Folge ist eine weitere Schädigung von Parenchym- und Nicht- Parenchymzellen (2,63,214).

Die Oberflächenreaktion von Endothelzellen und Leukozyten wird durch die in den Endothelzellen und Monozyten gebildeten Mediatoren wie *TNF- $\alpha$* , Interleukine und *Plättchen aktivierender Faktor* (PAF) verstärkt (108,160,245). Leukozyten ihrerseits setzen toxische Stoffe wie Sauerstoffradikale und Mediatoren frei, die zu einer weiteren Schädigung des Organs beitragen (6,74,85,86,214,223).

Diese stattfindende Leukozytenakkumulation in den Sinusoiden schränkt die hepatische Mikrozirkulation deutlich ein, was durch eine gleichzeitig stattfindende Thrombozytenadhäsion noch verstärkt wird (33,34). Diese Leukozytenakkumulation kann als akute Leukozytenreduktion im Blut nach der Reperfusion gemessen werden. Eine ausgeprägte Reduktion scheint ein früher intraoperativer Marker für eine schlechte Organqualität, schlechte Konservierung und eine Leberdysfunktion zu sein (5).

Durch die Ischämie und Reperfusion kommt es zu einer Freisetzung von Endothelinrezeptoren und *immunreaktivem ET-1* (ir-ET1). Der Anstieg von ir-ET-1 führt zu einer Lumeneinengung der Sinusoide um bis zu 77%. Dadurch kommt es zu Mikrozirkulationsstörungen und damit einhergehender Reduktion der Perfusionsrate der Leber. Diese Minderversorgung des Organs führt zur Schädigung desselben (220). Die Verkleinerung des Kapillarquerschnittes führt nach dem *Hagen-Poiseuille-Gesetz* zu einem stark erhöhten Gefäßwiderstand was die Reperfusion und Beendigung der Ischämie erschwert (60).

Weitere Beeinträchtigungen der Fließeigenschaften sind zum einen ein erhöhter Hämatokrit in den Kapillaren, hervorgerufen durch vermehrte Extravasation von Elektrolyten und Wasser, sowie die Leukozytenadhäsion in den postkapillären Venolen (128,129).

Die Sinusoide stellen den Ort der „kapillären“ Perfusion dar und drainieren schließlich in die efferenten terminalen hepatischen Venolen (170). Die Sinusoide zeichnen sich durch das fenestrierte Endothel aus, wodurch Blutplasma ungehindert in den perisinusoidalen *Disse'schen Raum* zirkulieren kann (235). Auffallend am spezialisierten mikrovaskulären System der Leber ist ein hoher Druckgradient zwischen präsinusoidalen portalen Venolen und Arteriolen einerseits und Sinusoiden andererseits (138). Die Regulation des Blutzufusses in die Sinusoide erfolgt durch einen Sphinkterapparat, der aus Aktin- und Myosinfilamenten tragendem Endothel, sowie Ito- Zellen besteht (58,124,148,172) .

Dies ist Voraussetzung für die Regulierung sowohl der sinusoidalen Durchmesser, als auch der Durchmesser und der Anzahl der Fenestrae,

wodurch eine Steuerung des Plasmaflusses in den *Disse'schen Raum* ermöglicht wird (149,240).

Das initiale Reperfusionversagen von Kapillaren im postischämischen Gewebe wird durch folgende Pathomechanismen hervorgerufen: Im Vordergrund steht eine Schwellung von Parenchym- und Endothelzellen, welche durch intrazellulären Natrium- und Wassereinstrom hervorgerufen wird (60,109,140). Während der Reperfusion gebildete reaktive Sauerstoffradikale besitzen, wie schon erwähnt, eine Schlüsselstellung in der Initiierung von Leukozyten-Endothelzell-Interaktionen und gesteigerter mikrovaskulärer Permeabilität (63,65,229). Die gebildeten Sauerstoffradikale induzieren die Expression von Adhäsionsproteinen an der Oberfläche kapillärer Endothelzellen (*Selektine*, *Intracelular adhesion molecule-1 (ICAM-1)*), sowie an den Leukozytenzellmembranen (*Selektine*, *Integrine*, *LFA-1* (Lymphozyten Funktion assoziiertes Antigen 1) und *Macrophage-1 Antigen (Mac-1)*) (84,119,153,158,179,215). Über diese Adhäsionsproteine kommt es zur Leukozyten- und Endothelzellinteraktion (229), die in einer Sequenz von Margination, Leukozytenrollen („*rolling*“) und vollständiger Adhäsion („*sticking*“) abläuft (171). Durch anschließende transendotheliale Migration kommt es zu einer massiven Leukozyteninfiltration in das postischämische Gewebe mit Steigerung der Kapillarpermeabilität und konsekutiver Gewebeschädigung (85,126,127,229). Dass *ICAM-1* ein wichtiger Signalweg bei der Interaktion von Endothelzellen, Hepatozyten mit Neutrophilen bzw. Lymphozyten ist, zeigte eine Studie bei der die Adhäsion, induziert durch TNF- $\alpha$  und INT- $\gamma$ , unterbunden bzw. gehemmt werden konnte, nach dem ein monoklonaler Antikörper gegen *ICAM-1* bzw. gegen *LFA-1* verabreicht wurde (176).

## 2.3 Ansätze zur Verbesserung der Organqualität

Es werden verschiedene Ansätze verfolgt, die eine Verbesserung der Organqualität bewirken oder zur Folge haben.

- Verhinderung einer Zellaktivierung:

Es wird versucht durch die Zugabe von z.B. Gadolinium Chlorid oder Penthoxyphillin die Aktivierung der *v. Kupffer-Zellen* und Leukozyten zu verhindern, um so die Schädigungen durch die von ihnen gebildeten Stoffe wie Sauerstoffradikale und TNF- $\alpha$  zu verhindern (83,213).

Durch die verwendete Narkose kann auch protektiv auf die Transplantatleber Einfluß genommen werden. So hat sich gezeigt, dass das verwendete Narkosegas auch einen Einfluß auf die Leber sowie den I/R bei einer LTx hat. So schützen klinisch relevante Konzentrationen von Sevofluran vor, während und nach Leberischämie die Leber vor einem I/R, wohingegen solche Effekte von Isofluran nicht beobachtet wurden (10). Andererseits kann durch eine Vorbehandlung mit Isofluran der portale Widerstand gesenkt werden was einen positiven Effekt auf die Leberhämodynamik hat (185). Desweiteren kann Isofluran die Leber auch vor einem I/R schützen, da Isofluran eine Induktion der Hemme-Oxygenase-1 hervorruft (186). Ebenso wird bei der Verwendung von Isofluran eine deutlich verminderte Sauerstoffradikalenbildung bei der Reperfusion beobachtet, was ebenfalls einen schützenden Effekt auf die Leber hat (103). So hat auch das verwendete Narkosemittel einen Einfluß auf die Transplantation und Organfunktion (78).

- Radikalfänger und Antioxidantien:

Ein weiterer Ansatzpunkt ist der Versuch Sauerstoffradikale die im Rahmen der Ischämie und Reperfusion entstehen durch Zugabe von Antioxidantien zu eliminieren. Als sog. Antioxidanten konnten für Stoffe wie *Glutathion*, *alpha-Tocopherol*, *Idebenone*, *Desferrioxamine*, *N-Acethylcystein* sowie *Bucillamin* positive Effekte auf den I/R im Tiermodell gefunden werden (3,61,152,180,189,231). Nichtsdestotrotz konnte bei einer humanen LTx kein Benefit verzeichnet werden.

- Gentransfer:

Über die Gene die bei der Entstehung eines I/R aktiviert werden, kann man die Pathogenese dieses Schadens besser verstehen und versuchen einen Ansatzpunkt in Form von Zielgenen zu finden um diesen Schaden zu minimieren (36). So konnte in einem tierexperimentellen Ansatz gezeigt werden, dass durch einen Gentransfer von Schutzenzymen, die für einen endogenen Radikalfänger kodieren wie z.B die Superoxid Dismutase, die Transplantatleber vor entstehenden freien Radikalen geschützt werden kann (112). Ebenso könnte ein therapeutischer Ansatz für die Behandlung eines I/R die genetische Induktion von *Interleukin-1-Rezeptor-Antagonisten* (IL-1RA) in der Leber sein, was eine Reduktion von Entzündungsmediatoren in der Leber nach der Lebertransplantation bewirkt (68). Auch eine Behandlung mit Prostaglandin E1 reduziert den I/R nach Lebertransplantation durch eine verminderte Expression von Adhäsionsmolekülen wie ICAM-1 auf den Endothelzellen, da es hierdurch zu einer geringeren Leukozytenadhäsion und Akkumulation in den Sinusoiden kommt (141).

- Reduzierung des I/R durch Modifizierung und Regelung von Zellrezeptoren und Signalwegen:

In einer Studie wurde erkannt, dass für die Entwicklung des I/R die Aktivierung des toll-like receptor 4 (TLR4) und seine Regulation durch den *Interferon-Regulationsfaktor 3* mit verantwortlich ist. Ebenso wurde entdeckt, dass der *Chemokine Ligand 10* die Entzündungsantwort der Leber auf den I/R reguliert und IL-10 die Leber lokal vor dem I/R schützen kann (243). An einem *knock out* Mausmodell konnte gezeigt werden, dass der Verlust des TLR4 die Neutrophilen Sequestration, die CD4<sup>+</sup>-Infiltration, das Interferon  $\gamma$ - induzierbare Protein 10, das Adhäsionsmolekül ICAM-1, den TNF- $\alpha$ , IL-1- $\beta$ , IL-2 und IFN- $\gamma$  reduziert. Bei Lebertransplantationen an diesen *knock out* Mäusen konnte auch festgestellt werden, dass die Caspase-3 eine geringere Aktivität aufwies und dadurch die Anzahl von apoptotischen Hepatozyten geringer ausfiel als bei Mäusen mit dem TLR4. So konnte gezeigt werden, dass der TLR4 auch eine große Rolle bei der Pathogenese des I/R spielt und einen Angriffspunkt für die Therapie bzw. für die Vermeidung des Schadens bietet (194).

Eine weitere Möglichkeit auf den I/R Einfluß zu nehmen und ihn ab zu mildern ist die Hemmung der Expression der interleukin 1 receptor associated kinase-4 (*IRAK-4*) durch ein Plasmid wie *IRAK-4shRNA* während der Pfortaderperfusion sowie während der kalten Ischämie (118). Ebenso kann auf den I/R Einfluß genommen werden indem man den Signalweg *NF-kappaB/I-kappaB* beeinflusst. Dieser Signalweg ist unter anderem dafür verantwortlich, Zielgene zu regulieren die für die Produktion von Entzündungsfaktoren wie TNF- $\alpha$  und ICAM-1 verantwortlich sind, welche eine entscheidende Rolle bei dem I/R spielen (237). Desweiteren können positive Effekte auf die Organfunktion nach Lebertransplantation durch Behandlung mit verschiedenen Stoffen erreicht werden. So kann durch eine Behandlung mit Bosentan, einem Endothelin Rezeptor (ET-R)-Blocker, der I/R vermindert werden, da durch die Blockade des Rezeptors die Mikrozirkulation des transplantierten Organs weniger beeinträchtigt wird und die Leber mehr mit Blut und Sauerstoff versorgt werden kann, was einen protektiven Effekt auf die Organfunktion hat (220). Eine Behandlung mit dem Ca<sup>2+</sup>-Blocker Diltiazem lässt einen protektiven Effekt auf den Ischämie induzierten Leberschaden vermuten, da die Gabe des Blockers eine Verbesserung des hepatischen Blutflusses sowie eine Reduktion der Laktatproduktion bewirkt (75).

Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass eine gleichzeitige Behandlung der Ratten mit Aminoguanidin (selektiver Inhibitor der iNO-Synthase) und *Aspiso*® (Acetylsalicylsäure) zu einem besseren Überleben der Ratten führt, sowie zu einer reduzierten Thrombozytenaggregation in der transplantierten Leber und somit zu einer geringeren Beeinträchtigung der Mikrozirkulation (121). Eine inhalative Behandlung von Ratten mit CO vor und nach der Lebertransplantation zeigte ebenso eine Reduzierung des I/R. Es konnte ein reduzierter Anstieg der Leberenzyme, eine geringere Nekroshäufigkeit, eine weniger ausgeprägte Ansammlung von Neutrophilen in den Sinusoiden, sowie eine Reduktion von den Faktoren TNF- $\alpha$  und ICAM-1 festgestellt werden (90). In einem weiteren Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass eine Vorbehandlung der Ratten mit einer Kombination von FK506 (Tacrolimus) und Aminoguanidin den I/R bei einer Rattenlebertransplantation auch reduzieren kann und dass Aminoguanidin alleine eine Abstoßungsreaktion nach Transplantation reduziert (81,122). Diese Erkenntnisse zeigen

Möglichkeiten auf, eventuell Einfluß auf die Entwicklung und Regulation des I/R zu nehmen und neue Therapiestrategien zu entwickeln.

### **2.3.1 Konservierungslösungen**

Für das Gelingen einer Transplantation ist die Konservierung des Organs eine entscheidende Bedingung. Zum einen ist ohne die Verwendung einer Konservierungslösung nur für eine kurze Zeit eine Aufbewahrung möglich, zum anderen hat die verwendete Lösung direkt Einfluß auf das Transplantationsergebnis. Um diesen Einfluß zu eliminieren wurde diese tierexperimentelle Studie ohne Konservierungslösung durchgeführt. Die Perfusion des Organs und die nachfolgende Aufbewahrung der Leber erfolgte mit 4°C kalter 0,9% NaCl-Lösung. So konnte gewährleistet werden, dass die unterschiedlichen Ergebnisse der Organfunktionen in den einzelnen Gruppen nur durch die unterschiedlich verwendete Reperfuisionsrichtung nach Lebertransplantation erreicht wurde und nicht durch die verwendete Konservierungslösung. In vielen klinischen und experimentellen Studien wurden verschiedene Konservierungslösungen untersucht um zu eruieren welche Lösung welche Vorteile hat und für welchen Konservierungszeitraum die einzelnen Lösungen am besten geeignet sind, sowie durch welche Zusatzstoffe die kalte Konservierungszeit bei gleicher Organfunktion verlängert werden kann (150,203). Da der Erfolg einer Transplantation von vielen verschiedenen Faktoren abhängt, die fast bei jeder Lebertransplantation unterschiedlich sind, kann man keine Konservierungslösung als die einzig optimale bezeichnen.

Es gibt aktuell diverse klinisch etablierte Perfusionslösungen wie Universtit Lösung (UW Lösung), Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat Lösung (HTK Lösung), Euro Collins Lösung (EC Lösung) und Celsior-Lösung, die sich in ihrer Art der Zusammensetzung unterscheiden. Das Ziel der Lösungen besteht darin, den einsetzenden Energieverlust des Organs gering zu halten, entstehende Radikale abzupuffern sowie der entstehenden Gewebsazidose entgegen zu wirken. Es wird immer noch nach der „perfekten Lösung“ gesucht um einen möglichen I/R zu reduzieren. So wird versucht die vorhandenen Perfusionslösungen zu modifizieren indem die Zusammensetzung verändert wird um eine noch bessere Konservierung der Organe zu erreichen. Es konnte

gezeigt werden, dass eine modifizierte HTK-Lösung, der *N-Acetyl-Histidin*, *Aspartat*, *Glycin*, *Alanin* und *Arginin* zugesetzt wurden, den I/R nach Lebertransplantation bei einer Organkonservierung von 24h zu reduzieren vermag. So war der Apoptose-Index bei der modifizierten Lösung signifikant geringer als bei der herkömmlichen HTK-Lösung (8).

Die UW Lösung wird auch verwendet, da sie eine Vielzahl von nicht zellgängigen Stoffen, wie *Lactobionat*, *Raffinose* und *Hydroxyethylstärke* enthält und dadurch eine Zellschwellung mit anschließendem Ödem während der kalten Konservierung verhindern soll. Zusätzlich enthält die UW-Lösung Substanzen wie *Glutathion* und *Adenosin*, die eine Regeneration stimulieren, sowie helfen sollen, nach der Reperfusion zu einem normalen Stoffwechsel zu gelangen. Antioxidantien wie *Glutathion* sollen entstehende Radikale eliminieren. Obgleich eine Konservierung mit dieser Lösung gut funktioniert, gibt es bei der Verwendung dieser Lösung immerhin bei 5-15% der Lebern schwerwiegende Probleme die mit einer schlechten Organfunktion einhergehen (201).

Bei einem direkten Vergleich der Lösungen UW, HTK und EC bei einer Lebertransplantation wurde gezeigt, dass bis zu einer Konservierungszeit von 4 h die besten Ergebnisse hinsichtlich intrazellulärem und interstitiellem Ödem sowie intralobulärer Nekrosen bei der HTK-Lösung erzielt werden. Ebenso war weder nach kalter Ischämie noch 1 h nach Reperfusion eine *v. Kupffer-Zellen* Aktivierung zu messen (202). Andererseits konnte gezeigt werden, dass die UW Lösung eine bessere Konservierung der Endothelzellstruktur und eine deutlich geringere Parenchymzellschwellung vor der Reperfusion zeigt. Außerdem ruft die UW Lösung eine geringere *v. Kupffer-Zellen* Aktivierung und eine geringere Freisetzung von lysosomalen Enzymen hervor als eine EC Lösung (21). Diese Vorteile machen aber auch deutlich, dass diese Schutzmechanismen stark von der Konservierungszeit abhängen. So konnte gezeigt werden, dass der schützende Effekt von Glutathion, welches eine Suppression der *ICAM-1-Expression* hervorruft nur bis zu einer Konservierungszeit bis 8 h zu verzeichnen ist. Nach 8 h kann kein schützender Effekt mehr festgestellt werden (45).

Bei einer weiteren Vergleichsstudie von UW, HTK und Celsior Lösung konnte ein Vorteil der UW Lösung in Bezug auf die Galleproduktion der Leber nach 16 h Konservierung gegenüber der HTK Lösung und nach 24 h gegenüber der Celsior Lösung gefunden werden. Bis 16 h Konservierung sind Celsior und UW Lösung gleich effektiv und besser als die HTK Lösung was die Apoptoserate betrifft (211). Aus dieser Studie geht deutlich hervor, dass jede Lösung ihre eigenen Vorteile hat, aber jede Lösung hat auch ihr spezielles Zeitfenster in der sie noch einen protektiven Effekt hat. Das zeigt aber auch welche Probleme bei einer Lebertransplantation auftreten können, da nicht jede Lösung in jedem Krankenhaus immer zur Verfügung steht und da man trotz der Organisation und der Organverteilung durch Eurotransplant (ET) und durch die Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO), die Ischämiezeit nicht genau vorherbestimmen kann.

### **2.3.2 Organprotektion bei Lebertransplantation**

Für die Entwicklung neuer Operationsverfahren sollte bzw. kann man sich Erkenntnisse aus der hepatobiliären Chirurgie zu nutzen machen. So wurde herausgefunden, dass die Leber durch das *Pringle-Manöver*, d.h. eine temporäre Organischämie durch das Abklemmen des *Lig. hepatoduodenale* bei einer Leberoperation, eine Ischämie länger ohne größeren Schaden übersteht wenn sie vorher präkonditioniert wird. Es wird eine Ischämie für eine bestimmte Zeit induziert und danach die Durchblutung wieder freigegeben. Dabei werden in der Leber Prozesse angeregt, die die Leber vor der darauffolgenden Ischämie schützen und die Leber so weniger Schaden nimmt. Diese Präkonditionierung sollte zwischen 10 und 15 min betragen mit anschließender Reperfusion von ebenfalls 10 – 15 min vor der eigentlichen langen Ischämiephase (4,191,192). Dadurch wird deutlich, dass durch die Einflussnahme der Durchblutungsart der Leber Reaktionen in dem Organ induziert bzw. angeregt werden, die einen Einfluß auf die Organfunktion haben.

Weitere Entwicklungen in der Transplantationschirurgie lassen darauf schließen, dass eine kontinuierliche Perfusion während der Organkonservierung Vorteile für die Organfunktion bringt im Vergleich zur reinen einfachen kalten Aufbewahrung. So werden Perfusionssysteme entwickelt die beim

Organtransport eine permanente und kontinuierliche Durchströmung des Organs mit Nährlösung und Sauerstoff gewährleisten um so eine Schädigung zu verhindern (131). Im Tierexperiment haben solche Systeme ihren Erfolg gezeigt. Für humane klinische Transplantationen ist der Einsatz aber logistisch relativ aufwendig, teuer und sie werden noch nicht routinemäßig in der Klinik eingesetzt (239,137).

Durch Verfahren wie die Präkonditionierung, die Vorbehandlung der Spenderleber mit einem Gentransfer, der das Organ widerstandsfähiger gegen entstehende Sauerstoffradikale macht, durch eine Optimierung der Perfusionslösungen und die Perfusionsart wird versucht die Organfunktion zu verbessern und die Schädigungen durch die Konservierung und anschließender Reperfusion zu minimieren (9,112,222). Diese Schutzmaßnahmen sind nötig, da es bei Auftreten von schweren Konservierungsschäden zu stärkeren Abstoßungsreaktionen kommen kann (80).

### **2.3.3 Reperusionsstrategien**

Eine weitere Möglichkeit, die Organfunktion zu verbessern besteht darin, die Reperfusion des Organs mit Blut nach einer Transplantation zu optimieren.

Die initiale Reperfusion bei der Lebertransplantation kann entweder portalvenös, arteriell oder simultan nach Fertigstellung der Gefäßanastomosen erfolgen. Die Diskussion über die Überlegenheit der einen oder anderen Methode wird zwar grundsätzlich geführt, kann für die klinische Transplantation jedoch nicht mit quantitativen Daten belegt werden. Experimentelle Daten deuten auf der Ebene der Mikrozirkulation auf eine Überlegenheit der simultanen Reperfusion hin (162,163,165). Klinisch wird bei simultaner Reperfusion unter Ausnutzung des von Beginn an hohen arteriellen Perfusionsdruckes sofort von einer homogenen Perfusion berichtet, gemessen an dem makroskopischen Eindruck auf der Leberoberfläche (143). Desweiteren zeigt sich eine niedrigere Inzidenz an Gallenwegskomplikationen (einer rein arteriellen Endstrombahn in der Leber) (175). Einige Autoren postulieren zur Ausnutzung des hohen arteriellen Perfusionsdruckes von Beginn der Perfusion an sogar eine initiale Arterialisierung (222). Dem gegenüber steht aber die Verlängerung der anhepatischen Zeit und der gemischten warmen Ischämiezeit bis

zur Fertigstellung der Gefäßanastomosen.

In dieser tierexperimentellen Studie wurde eine initiale retrograde venöse Reperfusion durchgeführt um deren Vorteile, die klinisch erkannt wurden zu erklären. So konnte die Arbeitsgruppe um *Heidenhain* in Berlin zeigen, dass die retrograde Reperfusion für Hepatozyten einen Vorteil zu bringen scheint, wohingegen Galleepithelzellen mehr geschädigt werden als bei einer initialen simultanen Reperfusion und es dadurch zu einer erhöhten Inzidenz von ITBL kommt (73).

Die Arbeitsgruppe um *Kniepeiss* aus Graz konnte ebenfalls zeigen, dass die retrograde Reperfusion eine gute Methode für eine Lebertransplantation darstellt. So ist sie gut geeignet die Konservierungslösung aus der Leber zu entfernen, die Kreislaufstabilität während der Reperfusionsphase zu verbessern und hämodynamische Störungen während einer Lebertransplantation zu verhindern. Das führt dazu, dass es mit dieser Niedrigdruckreperfusion zu einem geringeren Anstieg von Leberenzymen postoperativ kommt und die initiale Leberfunktion besser ist. Es treten auch seltener Post-Reperfusionssyndrome auf als bei anderen Reperfusionsstrategien (38,101).

Um weitere Erkenntnisse in der Transplantationsmedizin zu gewinnen wird heute vermehrt auf tierexperimentelle Studien zurückgegriffen. Im Tierexperiment kann man gezielte Fragestellungen standardisiert untersuchen und hat weniger Stör- und Einflussfaktoren, verglichen mit einer humanen Transplantation, die man berücksichtigen muss. So ist es möglich durch Verwendung von syngen gezüchteten Tieren Abstoßungsreaktionen auszuschließen und so andere Reaktionen und Einflüsse auf die Organfunktion zu untersuchen. Auch wenn die Ergebnisse aus dieser tierexperimentellen Studie nicht voll auf den Menschen extrapolierbar sind, so können sie doch einen Hinweis und eine Tendenz auf die Reaktionen während und nach einer Lebertransplantation geben (26).

## 2.4 Technik der orthotopen Rattenlebertransplantation

S.Lee publizierte 1973 als erster die orthotope Lebertransplantation an der Ratte und gilt als Begründer dieser Operation im Rattenmodell (110). Wie bei der humanen Lebertransplantation verwendete er einen extrakorporalen porto-jugulären Bypass zur Dekompression des Splanchnikus-Gebietes während der anhepatischen Phase. Die Anastomosen wurden alle in mikrochirurgischer Nahttechnik durchgeführt. Die arterielle Versorgung wurde durch ein langes Donor-Aortensegment realisiert, welches er End-zu-Seit mit der Aorta des Empfängers anastomosierte. Den Gallengang der Transplantatleber implantierte er in das Duodenum des Empfängers.

Zwei Jahre später, 1975 publizierte Lee eine leichter zu reproduzierende Technik bei der er die Arterialisierung der Spenderleber weg ließ. Er stellte fest dass die Leber auch ohne Arterialisierung die Transplantation gut überstand und im Empfänger eine ausreichende Funktion aufwies. Bei dieser Technik wurde zuerst die suprahepatische *Vena cava* anastomosiert und dann die Pfortader. Im Anschluß daran konnte der Blutfluss wieder freigegeben werden und so konnte die anhepatische Zeit auf 25 min verkürzt werden. Erst nach der Reperfusion wurde dann die infrahepatische *Vena cava* anastomosiert. Durch die Verkürzung der anhepatischen Phase konnte er auf den Einsatz des extrakorporalen Kreislaufes verzichten, was eine deutliche Erleichterung der Operation darstellte (111).

1979 veröffentlichten N. Kamada und Roy Y. Calne eine revolutionäre Technik der orthotopen Rattenlebertransplantation. Sie anastomosierten die *Vena portae* und die *infrahepatische Vena cava* nicht mehr durch eine Naht, sondern führten die Anastomose durch Polyäthylen-Cuffs durch. Dadurch konnten sie die anhepatische Phase weiter verkürzen und erreichten so eine Zeit von 15 - 17 min. Dabei verzichteten sie wie S. Lee ebenfalls auf eine Arterialisierung und einen extrakorporalen Kreislauf. Eine weitere Modifikation stellte die Gallenganganastomose dar. Hier verwendeten Kamada und Calne zwei Kunststoff-Splints die in den Spender- wie auch Empfängergallengang eingeführt wurden und dann im Anschluß teleskopartig ineinander gesteckt und fixiert wurden (92).

*F.A. Zimmermann* führte ebenfalls 1979 eine weitere Vereinfachung ein. Er anastomosierte den Gallengang mit einem Teflonsplint über den sowohl der Spendergallengang, als auch der Empfängergallengang übergestülpt und in dieser Position fixiert wurden (246).

1980 führte *M. Miyata* die Cuff-Technik auch bei der *suprahepatischen Vena cava* ein und konnte so die anhepatische Phase auf 13-14 min verkürzen. Die Überlebensraten lagen bei ihm 1 Woche postoperativ bei 85 % und nach 2 Monaten bei 55 % der Tiere (132).

*A. Settaf* publizierte 1986 ebenfalls eine Technik der orthotopen Lebertransplantation in der Ratte bei der die *suprahepatische Vena cava* durch eine Cuff anastomosiert wurde. Die anhepatische Phase bei dieser Methode betrug 11 min und die 2 Monats- Überlebensrate betrug 70 % (193).

1988 veröffentlichte *S. Tsuchimoto* eine ähnliche Transplantationstechnik mit einer 100-Tage Überlebensrate von 71,4 % (219).

1985 beschrieb *R. Engemann* eine Operationstechnik mit Arterialisierung der Spenderleber. Er verwendete wie *S. Lee* ein Spender-Aortensegment welches End-zu-Seit mit der Empfänger-Aorta anastomosiert wurde. Die Venen anastomosierte er in mikrochirurgischer Nahttechnik und die Gallenganganastomose führte er mit einem Teflonsplint, wie bei *F.A. Zimmermann*, durch (46).

Obwohl einige Studien zeigen konnten, dass die Rattenlebertransplantation auch ohne Arterialisierung möglich ist, ist man sich heute einig darüber, dass die Arterialisierung der Leber nach Transplantation einen Vorteil für das transplantierte Organ und seine Funktion darstellt, die Regenerationsfähigkeit erhöht wird und Komplikationen der Gallewege nach der Organübertragung reduziert werden (48,92,98,111).

Die Arterialisierung im Rattenmodell ist auch deshalb nötig um überhaupt eine Vergleichbarkeit mit einer humanen Lebertransplantation herstellen zu können, da der Mensch eine Lebertransplantation ohne Arterialisierung nicht übersteht, bzw. eine arterielle Thrombose der *A. hepatica communis* direkt nach der Lebertransplantation einer der Gründe für eine Transplantatdysfunktion (IPF

bzw. INF) darstellt, was eine Thrombektomie oder eine Retransplantation nötig macht (217).

In der zitierfähigen internationalen Literatur werden zahlreiche Techniken für die Arterialisierung beschrieben. So publizierte *Y. Hasuik* 1988 eine Methode bei der er nach rechtsseitiger Nephrektomie die rechte *A. renalis* des Empfängers mit dem Spender-Aorten-Segment in Cuff-Technik anastomosierte (69).

1989 veröffentlichte *R. Steffen* ein Modell, in dem der *Truncus coeliacus* des Spenders mit der *A. hepatica communis* des Empfängers in Cuff-Technik anastomosiert wurde (208).

*W. Gao* war der erste, der im Jahre 1993 die *A. hepatica communis* des Spenders und die *A. hepatica propria* des Empfängers mit einem Kunststoffsplint anastomosierte (56).

Eine Arterialisierung der Transplantatleber steigert deutlich das Überleben der Versuchstiere und führt zu einem reduzierten Anstieg von Leberenzymen nach der Transplantation durch Reduktion des hypoxischen Zellschaden sowie eine reduzierte Freisetzung von Sauerstoffradikalen (56).

## **2.5 Morphologie der Rattenleber**

### **2.5.1 Makroskopischer Aufbau**

#### **2.5.1.1 Lebereinteilung**

Die Leber ist das größte Organ der Ratte und füllt den gesamten subdiaphragmalen Raum aus. Die Oberfläche ist glatt begrenzt und erscheint durch den Bauchfellüberzug glänzend. Die Leber setzt sich aus vier Lappen zusammen, die um eine Achse, die durch die *Vena cava inferior* gebildet wird, miteinander in Verbindung stehen. Ventral liegen der *Lobus medianus* und der *Lobus lateralis sinister*, dorsal liegen der *Lobus lateralis dexter* und der *Lobus caudatus*. Der *Lobus medianus* wird durch die *Fissura umbilicalis* in einen linken und rechten Anteil unterteilt, bei der auch das *Ligamentum falciforme* ansetzt, welches als Aufhängeband eine Verbindung zum Diaphragma

darstellt. Der *Lobus lateralis sinister* wird zum Teil vom *Lobus medianus* bedeckt und liegt seinerseits über dem *Lobus caudatus*. Eine tiefe Fissur teilt den *Lobus lateralis dexter* in zwei gleiche, ventrale und dorsale Anteile. Der *Lobus caudatus* wird auch durch eine Fissur in zwei Anteile gegliedert, durch die der Ösophagus verläuft.

Die portale Aufteilung ermöglicht es auch bei der Ratte, ebenso wie beim Menschen, die übliche Einteilung der Leber in 8 Segmente, die 1957 von *Couinaud* beschrieben wurde, anzuwenden (184).

Die Fixierung der Leber im Abdomen erfolgt über verschiedene Ligamente. Das *Ligamentum falciforme hepatis* verbindet die Leber mit dem Zwerchfell und der Bauchwand. Das *Ligamentum teres hepatis* verläuft als obliterierte Nabelvene im *Ligamentum falciforme hepatis*. Eine weitere Verbindung zwischen der Leber und Zwerchfell stellt das *Ligamentum coronarium hepatis* dar. Es entspringt ventral und lateral am Austritt der *Vena cava inferior*. Das kleine Netz (*Omentum minus*) setzt sich aus dem *Ligamentum hepatogastricum* und dem *Ligamentum hepatoduodenale* zusammen. Es stellt eine Verbindung der Leber, der kleinen Magenkurvatur und der Leberpforte dar. Das *Ligamentum triangulare sinister* und *dexter* verbindet den *Lobus medianus* und auch den *Lobus lateralis dexter* mit dem Zwerchfell.

Das Gewicht der Leber entspricht ca. 3 % des Körpergewichtes des Tieres und ist bei Ratten gleicher Rasse, gleichen Alters und mit gleichem Ernährungsstatus annähernd identisch und vergleichbar (230).

### **2.5.1.2 Blutversorgung**

Die Leber hat eine doppelte Blutversorgung. Zum einen durch die Leberarterie (*Arteria hepatica propria*) die aber nur 20-30 % der Durchblutung bereitstellt und zum anderen durch die Leberpfortader (*Vena portae*), die 70-80 % des Blutbedarfs deckt. Die Pfortader, die eine Vereinigung von *Vena lienalis* und *Vena mesenterica superior* darstellt, sammelt das Blut aus den unpaaren Bauchorganen und führt es der Leber zu. An der Leberpforte teilt sich die Pfortader über ihre Lappen- und Segmentäste bis in die *Vv. Interlobulares* auf um dann das Kapillarnetz über die *Rami terminales* zu versorgen.

Die *A. hepatica propria* geht aus der *A. hepatica communis* hervor, welche wiederum aus dem *Truncus coeliacus* entspringt. Die *A. hepatica communis* verläuft im *Ligamentum hepatoduodenale*, gibt die *A. gastroduodenalis* ab und zieht dann als *A. hepatica propria* zusammen mit der Pfortader zum Leberhilus bzw. zur Leberpforte und versorgt so die Leber. Jedoch werden der mediale und dorsale Anteile des *Lobus lateralis sinister* von der *A. hepatica sinistra* versorgt; sie entspringt aus der *A. gastrica sinistra* und verläuft entlang des Ösophagus, um von dort zur Dorsalseite des *Lobus lateralis sinister* zu ziehen. Die Aufteilung der Arterien in ihre Lappen- und Segmentäste erfolgt bis zu den *Aa. interlobulares* weitgehend entsprechend den Aufteilungen der Pfortader. Jedoch münden die Interlobulararterien nicht ausschließlich in das sinusoidale Kapillarnetz, sondern ergießen sich auch in das interlobuläre Gewebe. Die *A. hepatica*, die *V. portae* und der *Ductus hepaticus* sowie deren Äste verlaufen stets gemeinsam zu den einzelnen Segmenten.

Das portale Blut ist angereichert mit aus dem Intestinum resorbierten Nahrungsbestandteilen (Aminosäuren, Monosaccharide, mittelkettige Fettsäuren), im Darm gebildeten oder resorbierten Toxinen (Ammoniak, Gallensäuren), sowie speziellen Hormonen (Insulin, Glucagon) und Zytokinen. Das arterielle Blut bringt den nötigen Sauerstoff zur Leber. Beide Gefäßsysteme münden in die Lebersinusoide (weitleumige Blutkapillaren), wo sich das Blut schließlich vermischt und über die Zentralvenen (*Vv. centrales*) innerhalb eines Leberläppchens abfließt. Das venöse Blut konfluiert läppchen- und segmentweise zu den Lebervenen (*Vv. hepaticae*) die dann in die *Vena cava inferior* unterhalb des Zwerchfells münden (89). Während das sauerstoffreiche Blut der *A. hepatica* mit arteriell-systemischem Blutdruck der Leber zugeführt wird, beträgt der Druck in der Pfortader nur etwa 10 bis 15 mmHg, schwankt atemabhängig und ist während Systole und Diastole weitgehend konstant (107).

### **2.5.1.3 Gallensystem**

Der *Ductus coledochus* der aus dem Zusammenschluß der Gallengänge der Leberlappen entsteht, verläuft im *Ligamentum hepatoduodenale*, ist zwischen 12 und 46 mm lang und misst ca. 1 mm im Durchmesser. Er ist von lockerem Bindegewebe, in seinem distalen Anteil von reichlich durchblutetem

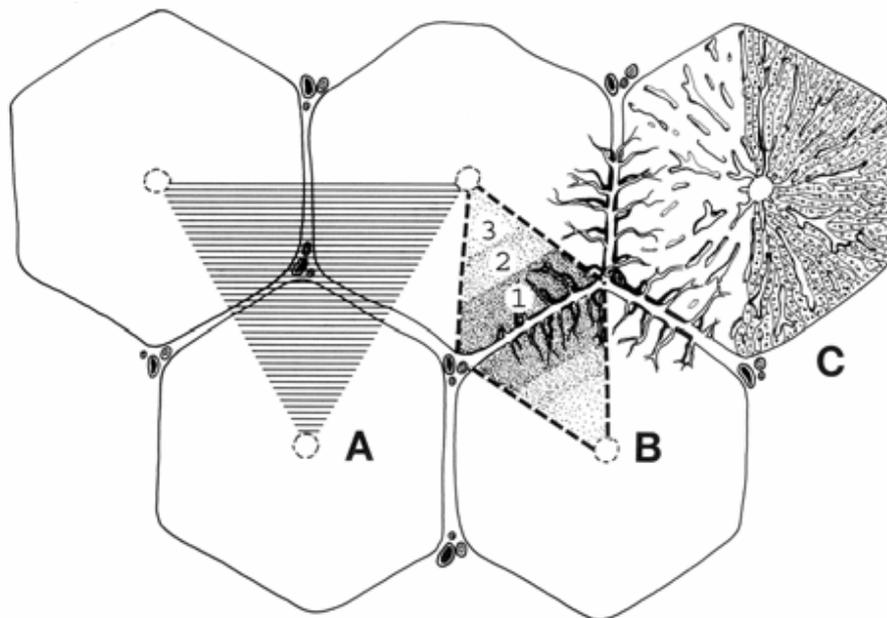
Pankreasgewebe, umgeben und mündet ca. 20 mm distal des Pylorus ins Duodenum. Vor der Einmündung ins Duodenum nimmt der *Ductus coledochus* die Gänge des Pankreas auf. Die Ratte besitzt keine Gallenblase (230).

## 2.5.2 Mikroskopischer Aufbau

### 2.5.2.1 Gliederung des mikroskopischen Aufbaus

Die Leber wird von einer Bindegewebskapsel (*Glisson-Kapsel*), die außen ein Peritonealepithel bedeckt, umhüllt und ist aus kleinen Baueinheiten aufgebaut. Für die Einteilung der Baueinheiten gibt es 3 mögliche Gliederungen:

1. das klassische Leberläppchen
2. Leberazinus
3. Portalvenenläppchen



#### Abbildung 1: Gliederung der Leber.

A: periportale Läppchen mit Lebertrias

B: Leberazini mit zonaler Gliederung nach Rappaport

C: klassisches Leberläppchen mit Zentralvene

1: periportale Zone

2: midzonale Zone

3: perizentrale Zone

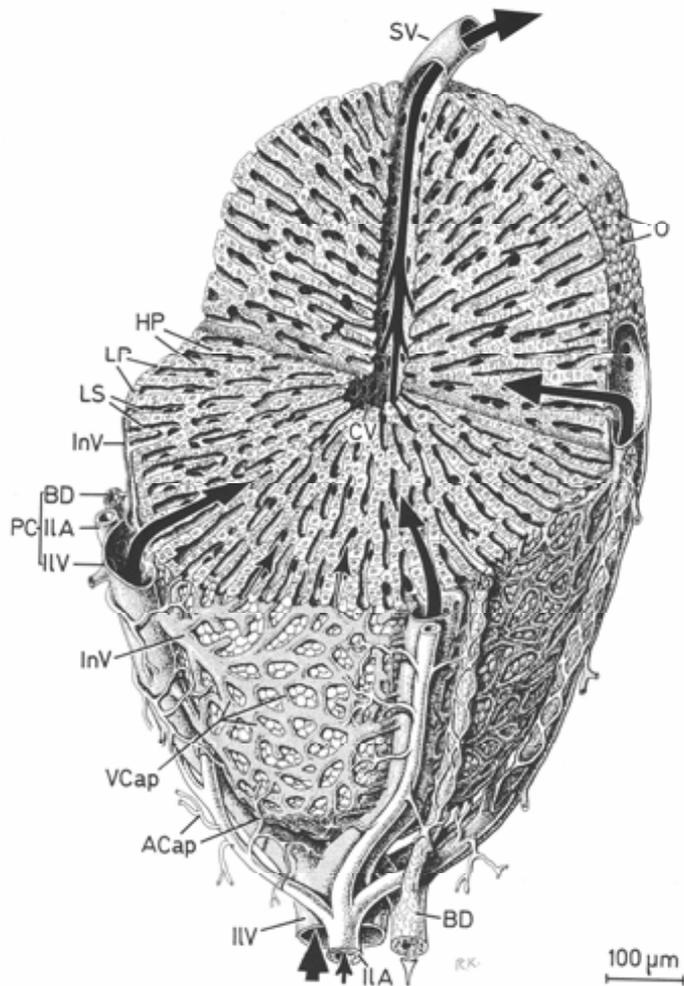
(LIEBICH 1999)

## 1. das klassische Leberläppchen

Beim klassischen Leberläppchen steht die Zentralvene im Mittelpunkt. Das histologische Bild zeigt ein 6-eckiges Anschnittprofil. Im Bereich der Ecken des Hexagons liegen bei 2 bis 3 Ecken die periportalen Felder, die aus lockerem Bindegewebe aufgebaut sind und die *Aa. und Vv. interlobulares* sowie einen Gallengang enthalten. Diese 3 Strukturen werden als *Glisson-Trias* bezeichnet. Das klassische Leberläppchen enthält radiär angeordnete Balken (Platten) der Leberepithelzellen (Hepatozyten). Jede Leberzelle grenzt mit einer Seite (morphologisch die Zellbasis) an die Sinusoide, so dass die Sinusoide und Leberzellbalken parallel verlaufen. Sinusoide haben im Gegensatz zu normalen Kapillaren keine Basalmembran. Ihre Innenauskleidung besteht zum großen Teil aus Endothelzellen, jedoch findet man auch *v. Kupffer-, Ito- und Pitzellen*. Über Poren können benachbarte Sinusoide kommunizieren und das Kapillarlumen steht mit dem perikapillären Spalt (*Disse'scher Raum*) in Verbindung.

Aus dem Periportalfeld werden die benachbarten Leberläppchen mit Blut versorgt. Die Endverzweigungen der Pfortader und der Leberarterie verschmelzen schon in der Peripherie der Läppchen, so dass das Läppchen von einem Mischblut durchströmt wird, dessen Sauerstoffgehalt in der Läppchenperipherie höher ist als im Läppchenzentrum. In den Läppchen fließt das Blut in den Sinusoiden, die ebenso radiär wie die Leberzellbalken angeordnet sind, auf die im Zentrum liegende Zentralvene zu.

Die Gallenwege bilden im Bereich der Läppchen feine Gänge (Gallenkapillaren, sog. *Canaliculi biliferi*) zwischen den Leberzellen. Es sind besonders ausgestaltete Interzellularlücken, die nicht von einem eigenen Epithel ausgekleidet sind. Die *Canaliculi* erhalten erst in der äußeren Peripherie der Läppchen ein eigenes flaches Epithel (*Hering-Kanäle*), aus denen dann rasch kleine Gallengänge mit kubischem Epithel entstehen, wie sie dann in den Periportalfeldern zu finden sind.



**Abbildung 2: Klassisches Leberläppchen.**

ACap: arterielle Kapillaren

BD: Gallengang

HP: Hepatozytenplatten

IIA: interlobuläre Arterie

IIV: interlobuläre Vene

InV: interlobuläre Venolen

LP: Lamina terminalis

LS: Lebersinusoiden

O: interzelluläre Öffnungen

PC: Trias

SV: sublobuläre Vene

VCap: venöse Kapillaren

(KRSTIC 1991)

## 2. Leberazinus

Dem Leberazinus gehören Teile zweier benachbarter klassischer Leberläppchen an. Seine zentrale Achse wird von den Ästen der interlobulären Vene und Arterie gebildet. Beide Gefäße verlaufen gemeinsam im zarten Bindegewebe zwischen zwei klassischen Läppchen. Von diesen Gefäßen gehen rechtwinklig links und rechts terminale Gefäßzweige ab, die dann in die klassischen Läppchen eindringen. Der Azinus hat im Anschnitt eine rhombenförmige Gestalt. Seine spitzen Enden werden jeweils durch die Zentralvene in den benachbarten Läppchen markiert. Im Azinus werden drei Zonen unterschieden, die durch unterschiedlichen Sauerstoffgehalt im Blut und andere funktionelle Parameter gekennzeichnet sind.

- **Zone 1:** spindelförmige Zone im Zentrum des Azinus (höchster Nährstoff- und Sauerstoffgehalt)
- **Zone 2:** intermediäre Zone (weniger Sauerstoff und Nährstoffe als in Zone 1)
- **Zone 3:** periphere Zone (der Sauerstoffgehalt entspricht dem Blut einer Vene, die Nährstoffe wurden zum größten Teil schon resorbiert, Stoffwechselmetabolite ins Blut abgegeben)

Die Zone 3 mehrerer benachbarter Azini entspricht dem Zentrum der klassischen Leberläppchen.

## 3. Portalvenenläppchen

Beim Portalvenenläppchen steht das Periportalfeld im Zentrum. Dem Periportalfeld gehören Anteile von drei klassischen Läppchen an. Die äußere Grenze ist durch eine Linie mit drei Ecken, die jeweils in einer Zentralvene liegen, markiert. Funktionell steht im Portalvenenläppchen das Gallenwegssystem und somit der exokrine Drüsencharakter der Leber im Vordergrund.

### 2.5.2.2 Der zelluläre Aufbau der Leber

Die Leber ist zu ca. 80 % aus zellulären Bestandteilen aufgebaut und zu ca. 20% aus Extrazellularräumen wie Sinusoide, Disse'scher Raum, Gallengänge und extrazellulärer Matrix. Den absolut größten Anteil an zellulären Bestandteilen stellen die *Hepatozyten* mit ca. 74 %. Der Rest der Zellen wird durch *sinusoidalen Endothelzellen*, v. *Kupffer-*, *Ito-* und *Pit-Zellen* gebildet.

#### 2.5.2.2.1 Hepatozyten

Die polygonalen Hepatozyten sind 20-30 µm große Zellen. Sie besitzen einen schmalen Gallepol, der an den Gallecanaliculus grenzt, und einen breiten Blutpol, der an ein Sinusoid grenzt. Durch ihre vielen verschiedenen Funktionen, wie Synthese, Umbau und Speicherung von Stoffen sowie Entgiftung des Organismus weisen sie einen dementsprechenden Zellorganellenbestand auf. Auf Grund der hohen Stoffwechsellistung der Leber haben die Hepatozyten eine hohe Anzahl an Mitochondrien, die als Kraftwerke der Zellen gesehen werden können und Energie liefern. Das raue endoplasmatische Retikulum zeigt in den Hepatozyten ein dichtes Netz und ist für die Proteinsynthese verantwortlich (Globuline, Fibrinogen, Gerinnungsfaktoren etc.). Das glatte endoplasmatische Retikulum hingegen ist im Zytoplasma der Hepatozyten diffus verteilt. Es ist unter anderem am Fettstoffwechsel beteiligt (Synthese von Lipoproteinen, Phospholipiden, Cholesterin, Triglyceride und freien Fettsäuren) sowie an der Biotransformation endogener und exogener toxischer Substanzen. Ebenso ist es für die Produktion und Sekretion der Galle verantwortlich, welche dann am Gallepol in die Gallecanaliculi abgegeben wird. Der Golgi-Apparat ist ein Speicher für Substanzen welche im rauhen und glatten endoplasmatischen Retikulum gebildet werden sowie ein Bildungsort von zahlreichen Enzymen und intrazellulären Membranen. Innerhalb der Zellen befinden sich noch Einschlusskörper wie Glykogen und Fettvakuolen. Die Fetttröpfchen welche in einer gesunden Leber selten vorkommen, liegen bei pathologischen Vorgängen und Veränderungen vermehrt im Zytoplasma vor (89).

#### 2.5.2.2.2 v. Kupffer-Zellen

Die *v. Kupffer-Zellen* stammen von Monozyten ab und kommen über den Blutstrom in die Leber und differenzieren sich zu ortsständigen Makrophagen im Bereich der Sinusoidwände. Sie sind Bestandteil des retikuloendothelialen Systems. Mit ihren Zytoplasmafortsätzen haften sie reversibel am Kapillarendothel und ragen zum Teil auch in den *Disse'schen Raum*. Die Aufgabe der *v. Kupffer-Zellen* liegt in der Phagozytose von Zellfragmenten, geschädigten Blutzellen und Mikroorganismen die vom Blut in die Leber eingespült werden. Die *v. Kupffer-Zellen* stellen ca. 30 % der Sinusoidwandzellen. Sie haben einen großen, ovalen und relativ chromatinreichen Kern. Sie sind reich an Zellorganellen, besonders Peroxisomen, und zeichnen sich durch eine hohe Peroxidaseaktivität aus.

#### 2.5.2.2.3 Ito-Zellen

Die *Ito-Zelle*, auch Lipozyt genannt, befindet sich im *Disse'schen Raum*. Sie ist das physiologische Reservoir für Vitamin A, das in speziellen und charakteristischen Fetttropfchen gespeichert wird. In einer normalen Leber kann man diese Zelle durch diese Fetttropfchen, Mikrofilamente und Caveolen identifizieren. Auf Grund der möglichen *Desmin-Expression* wurde sie mit Myofibroblasten verglichen (71). Neben der physiologischen Vitamin A-Speicherfunktion hat sie auf Grund der sog. *alpha-smooth Muskel Aktin Expression* auch eine regulative Funktion für die Mikrozirkulation der Leber (54,148). Bei einem akuten Leberschaden steigt die Anzahl der Ito-Zellen und es wird die Expression von *alpha-smooth Muskel Aktin* erhöht. Ito-Zellen scheinen eine Rolle bei der Regeneration der extrazellulären Matrix nach Leberschädigung zu spielen. Bei chronischer Leberschädigung differenzieren sich die *Ito-Zellen* in diese myofibroblastenähnlichen Zellen mit erhöhter Expression von *alpha-smooth Muskelaktin* und *-desmin*. Diese myofibroblastenähnlichen Zellen haben eine hohe Fibrosekapazität in chronisch kranken Lebern und sind ebenso beteiligt bei der Zerstörung der Matrix. Bei Vitamin A-Vergiftungen kann die Hypertrophie und Proliferation der Ito-Zellen sowie der myofibroblastenähnlichen Zellen zu einer nicht zirrhotischen portalen Hypertension führen bzw. eine Fibrose oder Zirrhose nach sich ziehen. Die

Verwandlung von *Ito-Zellen* in die myofibroblastenähnliche Zellen wird durch einen komplizierten interzellulären Kommunikationsweg zwischen *Ito-Zellen*, aktivierten *v. Kupffer-Zellen*, geschädigten Hepatozyten, Thrombozyten, Endothelzellen und Entzündungszellen zusammen mit Zytokinen und *Non-peptid-mediatoren* wie z.B. reaktiven Sauerstoffradikalen, Eicosanoiden und Acetaldehyd vermittelt. Das deutet darauf hin, dass die *Ito-Zellen* eine aktive Rolle bei einer Reihe von Lebererkrankungen mit fibrotischen Muster spielen (71).

#### 2.5.2.2.4 Pit-Zellen

*Pit-Zellen* sind spezialisierte Lymphozyten, die man sowohl im *Disse'schen Raum* des Lebergewebes als auch zwischen den Hepatozyten findet. Sie gehören zu den nicht-parenchymatösen Zellen des Lebergewebes. Die *Pit-Zellen* sind lymphoblastischer Natur, stammen wahrscheinlich aus dem Knochenmark, bilden eine kleine Population von Leberzellen und zeigen eine wechselnde Lagebeziehung zur Sinuswand. Infrasinussidale *Pit-Zellen* haben engen Kontakt zu Endothel- oder *v. Kupffer-Zellen*. Ihre Gestalt ist lokalisationsabhängig. Das Zytoplasma ist arm an Organellen und enthält kaum Glykogen. Der Kern von *Pit-Zellen* entspricht in seinen Merkmalen einem Lymphozytenkern. *Pit-Zellen* sind leberspezifische natürliche Killerzellen (NK-Zellen) (94,139). Sie zeigen etliche morphologische Eigenschaften wie NK-Zellen. NK-Zellen erkennen ihre Zielzellen mit ihren Oberflächenrezeptoren sowie mit ihren Aktivierungs- und Hemmungsrezeptoren. Sie besitzen antitumoröse Aktivität durch das Freisetzen von Perforinen und Enzymen, die eine Apoptose in den Zielzellen auslösen. Sie produzieren eine Menge verschiedener Zytokine (u.a. IFN- $\gamma$ ), die die Aktivität anderer immunkompetenter Zellen steigern (139).

### **3 Fragestellung**

Ziel dieser Studie war es zu klären, ob die Art der Organreperfusion nach allogener orthotoper Lebertransplantation im Rattenmodell einen Unterschied für die Transplantatfunktion darstellt und durch welche metabolische Faktoren dieser Unterschied erklärt werden kann.

## **4 Material und Methodik**

### **4.1 Versuchstiere**

Zur Durchführung der Experimente wurden männliche Lewis-Ratten (Fa. Charles-River Wiga GmbH, Sulzfeld, BRD) verwendet. Hierbei handelt es sich um Inzuchtstämme für deren Aufbau 10-50 Jahre erforderlich sind. Über mindestens 20 Generationen wird in engster Verwandtschaftspaarung ein Zuchtkern fortgeführt bei dem die Weiterführung zur nächsten Generation für die ganze Population jeweils auf einem einzigen Bruder-Schwester-Paar beruht. Durch ständige genetische Kontrollen wird gesichert, dass es sich um genetisch identische Tiere handelt.

Durchgeführt wurden die Lebertransplantationen an Ratten mit einem Gewicht von 160-180 g, wobei die Empfängerratte 20-40 g schwerer gewählt wurde, um die Transplantation technisch zu optimieren.

Die Tiere wurden einzeln in Microlonkäfigen (Ehret GmbH, Emmendingen, BRD) auf Einstreu im Tierstall des Zentrums für Präklinische Forschung (ZPF, Klinikum rechts der Isar der TU München) gehalten. Die Raumtemperatur im Tierstall lag zwischen 19-24°C und der Lichtzyklus betrug 12 h (6 – 18 Uhr). Die Tiere erhielten Wasser und eine Haltungsdiät (Pressfutter, Altromin 1324 Standarddiät, Lage, BRD) jeweils ad libitum. Nach der Lebertransplantation waren die Ratten für die ersten 4h unter einer Wärmelampe und hatten sofort wieder Zugriff auf Wasser und Futter.

## 4.2 Genehmigung der Tierversuche

Die Tierversuche waren gemäß des Tierschutzgesetzes von der zuständigen Behörde (Regierung von Oberbayern, München, BRD) unter dem Aktenzeichen 209.1/211-2531-89/04 zuvor genehmigt worden.

## 4.3 Versuchsgruppen (Gruppe I – IV)

In dieser Studie wurden drei verschiedene Möglichkeiten (Gruppe I-III) der Organreperfusion und die dabei auftretende Organfunktion nach orthotoper Lebertransplantation miteinander verglichen. Durch eine weitere Gruppe (Gruppe IV) wurde versucht zu klären in wie weit die Hämodynamik und die Blutzusammensetzung in den für die Lebertransplantation wichtigen Gefäßabschnitten die unterschiedlichen Ergebnisse der Organübertragung erklären können.

Dazu wurde bei den Empfängertieren der Gruppe IV Blutgaswerte aus der *infrahepatischen Vena cava inferior* (VCI), der *Pfortader* (PV) sowie aus der *suprahepatischen Vena cava inferior* (VCS) zum Zeitpunkt der Reperfusion bestimmt, um analytisch zu klären mit welchen metabolischen Verhältnissen die Reperfusion der Leber erfolgt. Es soll geklärt werden, ob die Reperfluionsrichtung bzw. die Reperfluionsreihenfolge auf Grund der Blutgaswerte die Unterschiede der Transplantatfunktion erklären kann.

### Gruppe I

Bei den Empfängertieren der Gruppe I wurde initial die Durchblutung der transplantierten Leber über die Pfortader freigegeben und 6 min später über die Leberarterie. Im Anschluss daran wurde die *infrahepatische Vena cava* anastomosiert und hiernach der Gallengang rekonstruiert.

### Gruppe II

Bei den Empfängertieren der Gruppe II wurde eine ***simultane Reperfusion*** über die Pfortader und die Leberarterie durchgeführt. Dies konnte durch die Splinttechnik der Arterienanastomose realisiert werden, die es durch das Stecksystem ermöglicht, nach der Gefäßnaht der Pfortader innerhalb von 30s

die Leberarterie zu anastomosieren und den Blutfluss freizugeben. Danach wurde auch hier die *infrahepatische Vena cava* anastomosiert und somit der venöse Rückstrom aus der unteren Körperhälfte wieder freigegeben.

### **Gruppe III**

Bei den Empfängertieren der Gruppe III wurde die **Reperfusion retrograd** über die Lebervenen durchgeführt. Es wurde zuerst, wie auch bei den o.g. beiden Gruppen, die *suprahepatische Vena cava* anastomosiert. Danach aber wurde hier die *infrahepatische Vena cava* anastomosiert und der venöse Blutfluss aus der unteren Körperhälfte freigegeben. So kommt es zum Fluss über die Vena cava retrograd über die Lebervenen in die Leber. Erst dann wurde die Pfortader anastomosiert und die Leberarterie 6 min später rekonstruiert.

### **Gruppe IV**

Bei den Empfängertieren der Gruppe IV wurde der Operationssitus in gleicher Weise wie für eine Lebertransplantation präpariert. Die Gefäße wurden wie bei einer Lebertransplantation freigelegt, dargestellt und in der Reihenfolge wie bei einer Organübertragung abgeklemmt. Nachdem eine Gefäßsituation wie für eine Lebertransplantation vorlag, wurde die Zeitspanne einer fiktiven Lebertransplantation abgewartet um die Situation des anhepatischen Körpers zu simulieren (20 min). Im Anschluss daran wurden Blutproben zum Zeitpunkt der möglichen Reperfusion bei der Transplantation, d.h. nach Fertigstellung der Gefäßanastomosen aus den Anastomosenbereichen der *infrahepatischen Vena cava*, der Pfortader und der *suprahepatischen Vena cava* für die analytische Blutgaswertbestimmung entnommen. Die Blutproben wurden bei noch abgeklemmten Gefäßen jeweils leberfern der Gefäßklammern abgenommen. Durch diese Blutgasanalyse wurde ermittelt mit welcher Blutqualität die Reperfusion durchgeführt, die anhepatische Phase und somit die Ischämie beendet wird und ob ein Zusammenhang zwischen dieser Blutgasanalyse und der Transplantatfunktion besteht.

## 4.4 Die Rattenlebertransplantation

### 4.4.1 Explantation

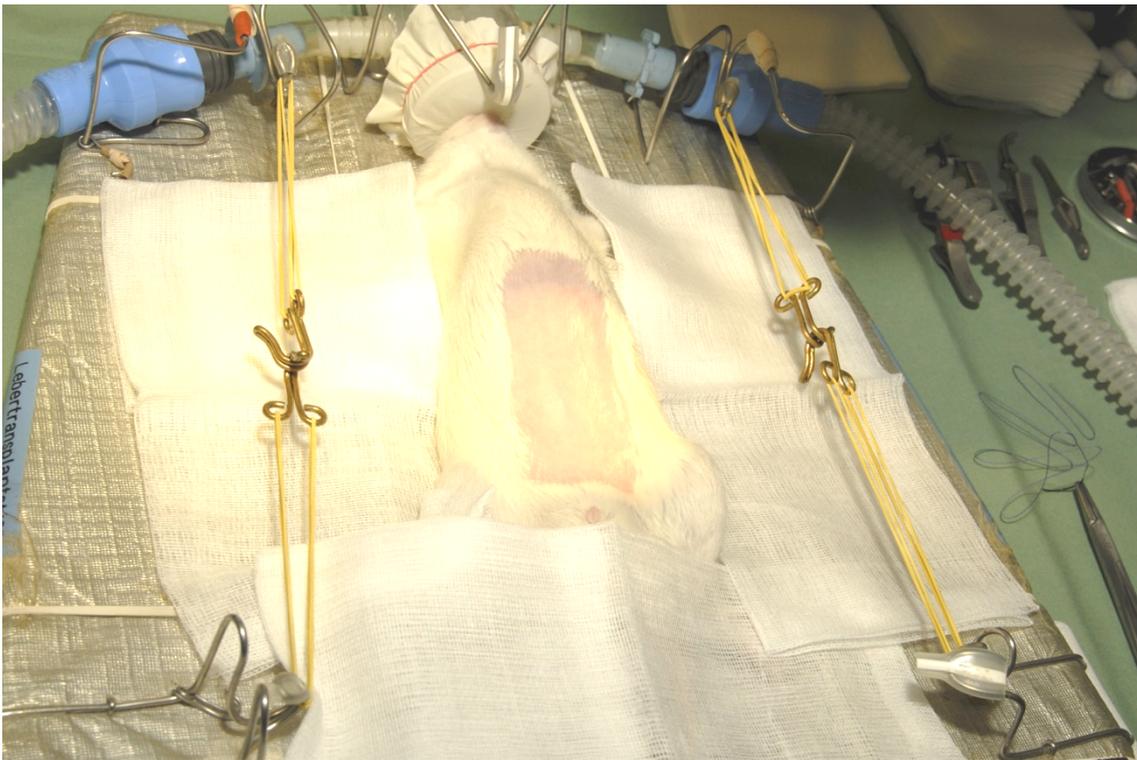
Für jede Operation sind bestimmte Vorbereitungen sowie die Einleitung der Narkose notwendig. Die Ratten, Spender wie Empfänger, wurden 8 h präoperativ nüchtern gesetzt sowie körperlich untersucht um allgemeine Infektionen und Atemwegsprobleme auszuschließen. Ratten im schlechten Allgemeinzustand wurden von der Studie ausgeschlossen. In dieser Studie wurde die Narkose mit *Isufluran* (1-Chlor-2, 2, 2-trifluoräthyl-difluormethyläther) – *Forene*® (Abbot GmbH, Wiesbaden, BRD) und einem entsprechenden Verdampfer (Fa. Völker, BRD) durchgeführt. Der Vorteil dieser Narkoseform ist die gute Steuerbarkeit und durch den Verdampfer die gute Dosierungsmöglichkeit sowie die niedrige Metabolisierungsrate (0,17%) des Isoflurans, das damit nur eine geringe Belastung für Leber und Nieren darstellt und so eine Organschädigung unwahrscheinlich macht. Es konnte sogar gezeigt werden, dass Isofluran einen schützenden Effekt bezüglich eines I/R hat (82). Als Träger des Narkosegases wurde 100 %-iger Sauerstoff verwendet.

Zur Einleitung der Narkose wurden die Ratten in eine Ganzkörperkammer aus Plexiglas gesetzt. Die Kammer hatte am Kopf- sowie am Schwanzende einen Zu- bzw. Abfluss an dem das Narkosegas eingeleitet wurde. Die Kammer wurde dann mit Isofluran geflutet und so die Ratte narkotisiert. Eine ausreichende Narkosetiefe war erreicht wenn die Ratte ihre Stellreflexe verloren hatte. Im Anschluss daran wurde die Ratte aus der Kammer entnommen und rücklings auf den OP-Tisch gelegt. Die Nasenspitze wurde in eine Narkosekammer platziert die mit einem Isofluran/Sauerstoff-Gemisch durchflutet wurde. Das Gemisch wurde so eingestellt, dass die eingeleitete Narkosetiefe aufrecht erhalten werden konnte. Als Kontrolle der Narkosetiefe diente die Atemfrequenz der Tiere. Eine zu tiefe Narkose bewirkt eine Atemdepression und so eine Sauerstoffminderversorgung der Organe bzw. kann einen Atemstillstand hervorrufen. Eine zu oberflächliche Narkose schaltet das Schmerzempfinden nicht komplett aus und es kommt zu einer verstärkten adrenergen Stressreaktion was zu einem Anstieg der Atmung sowie zu einem Anstieg der Herzfrequenz führt. Diese Zeichen sind während der Operation

durch das exponierte Zwerchfell gut zu sehen und so ist die Narkose gut zu steuern. Für die Durchführung der Narkose wurde eine Isoflurankonzentration von 1,0-2,0 Vol% verwendet. Ein Nachteil des Isofluran besteht in einem Abfall des Blutdrucks, dem gegenüber steht aber eine gute Steuerbarkeit, einfache Handhabung, Reduzierung des portalen Gefäßwiderstandes, schützender Effekt gegen einen I/R sowie ein schnelles postoperatives Erwachen (37,185,186).

Um ein zu starkes Auskühlen der Versuchstiere während der Operation zu verhindern wurde das Operationsbrett auf eine Wärmematte (Fa. Horn GmbH, Gottmadingen, BRD) mit 37°C gestellt.

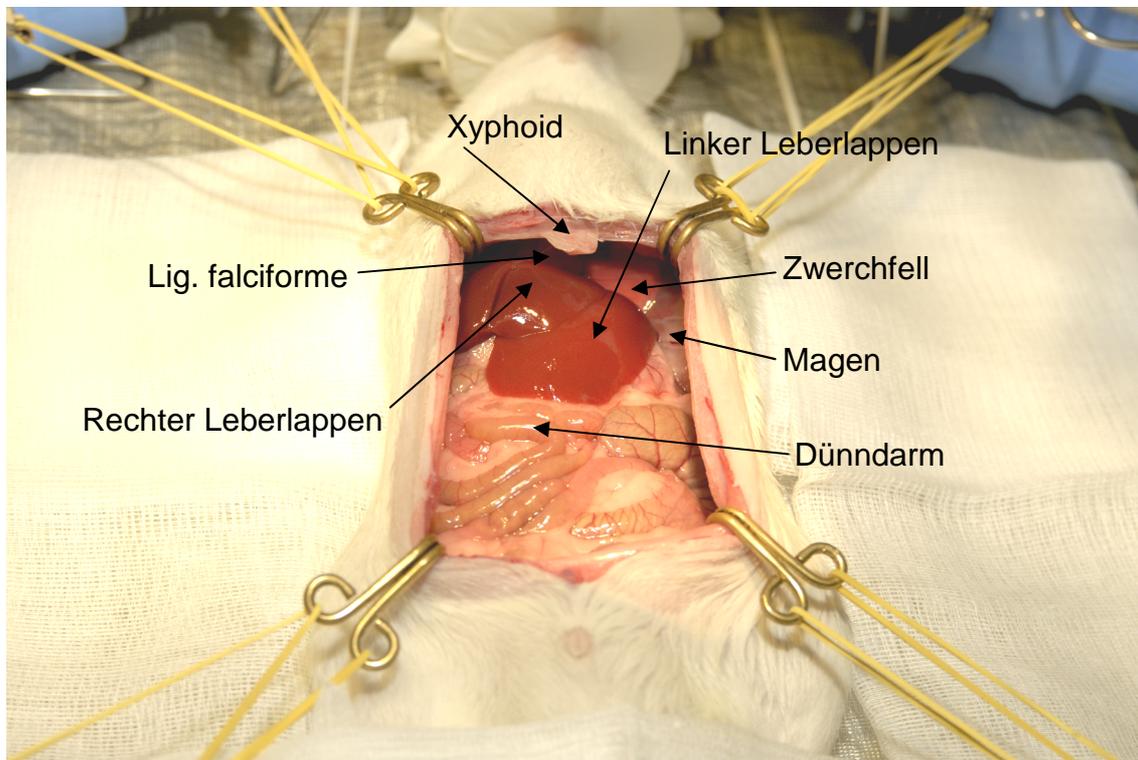
Nachdem die Ratte narkotisiert auf dem OP-Tisch lag wurde das Abdomen mit einem Trockenrasierer von den Haaren befreit und die Ratte für die Operation gelagert.



**Abbildung 3: Ratte auf dem OP-Tisch**

#### 4.4.1.1 Hepatektomie des Spenders

Im Anschluß daran wurde eine Laparatomie entlang der *Linea Alba* durchgeführt. Das Abdomen wurde mit Gummizügen aufgespannt und so der Situs frei gelegt und dargestellt.

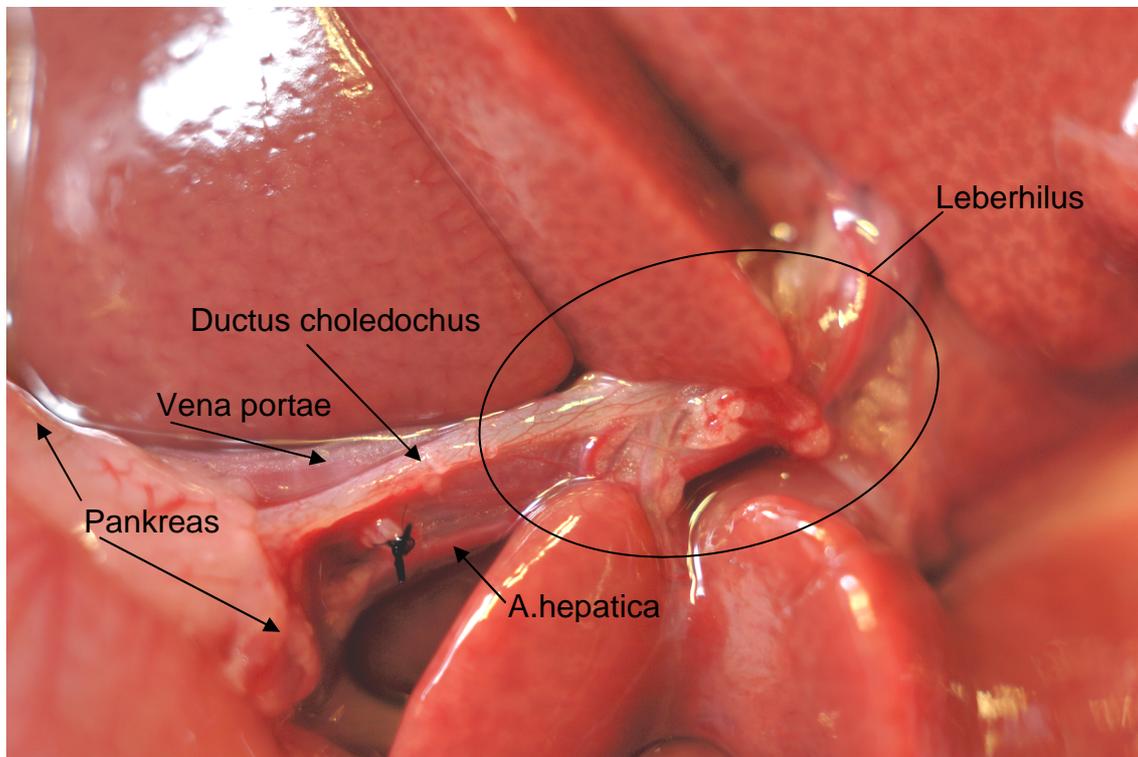


**Abbildung 4: OP-Situs**

Dann wurde begonnen die Leber des Spenders freizupräparieren. Als erstes wurde die Zwerchfellvene, die *V. phrenica sinistra*, ligiert um bei den weiteren Manipulationen Blutungskomplikationen zu vermeiden. Fehler oder unkorrekte Ligaturen führten bei diesem Operationsschritt zu Blutungen, die im Allgemeinen nicht mehr zu beherrschen waren und so das Ende der Organspende zu diesem frühen Zeitpunkt darstellten.

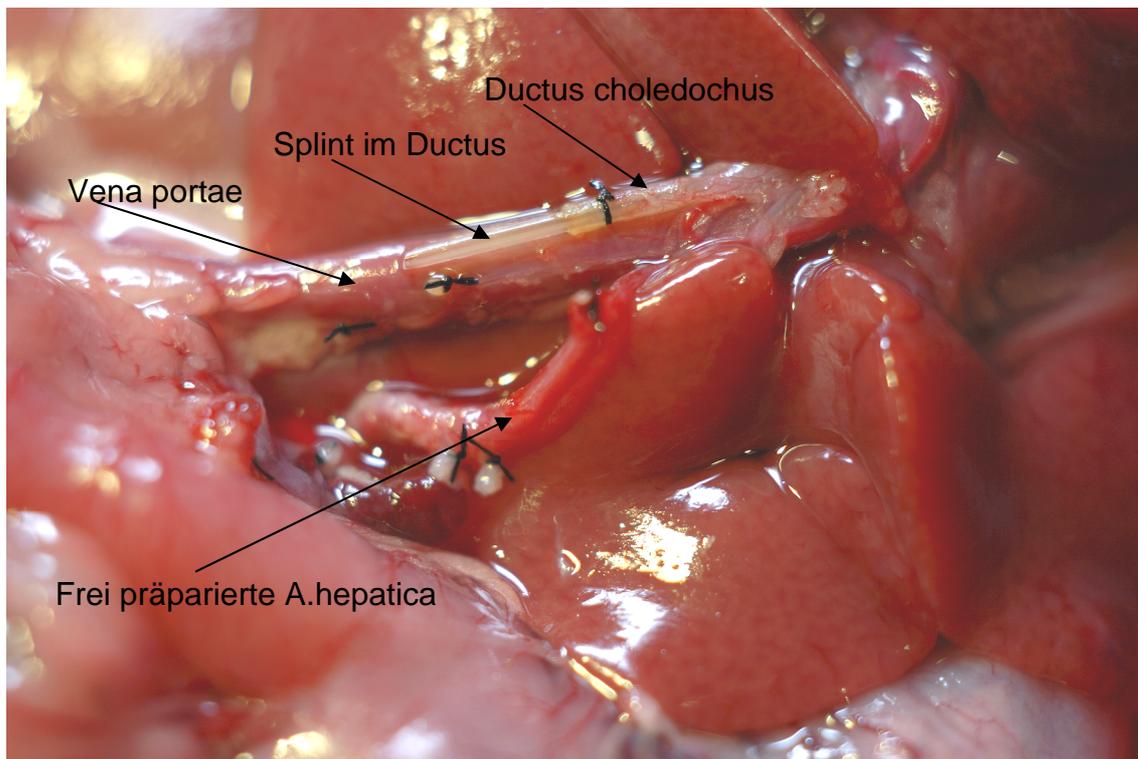
Im Anschluss daran wurden die ligamentären Fixierungen der Leber im Abdomen durchtrennt um die Leber mobilisieren zu können. Danach wurden die paraoesophagealen venösen Konvolute mit einem Elektrokauter koaguliert um Blutungen zu verhindern und um den Leberlappen, der dorsal des Magens liegt, mobilisieren zu können.

Beim nächsten Operationsschritt wurden der Leberhilus und das Ligamentum hepatoduodenale mit Pfordader, Leberarterie und Gallengang präpariert um die Strukturen darstellen zu können.



**Abbildung 5: Leberhilus**

Der Gallengang wurde leberfern durchtrennt und in das Endstück wurde ein Kunststoffsplint (6 mm Länge, BD Vasculon Plus 0,6x19 mm) für die spätere Gallengangs-anastomose eingeführt und mit einer Ligatur (Pharma-Hand Seide, 7-0) fixiert.



**Abbildung 6: Präparation der Hilusstrukturen mit eingeführtem Gallengangssplint**

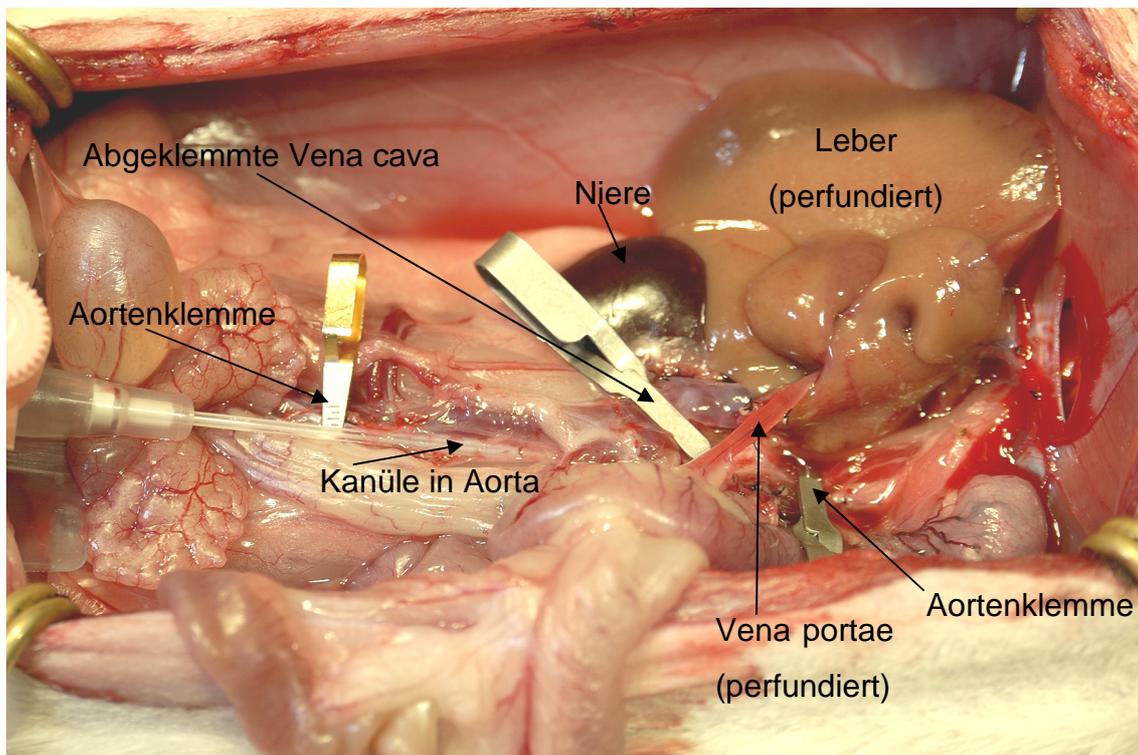
Die Pfortader wurde bis zur Milzvene freipräpariert und dargestellt. Die Leberarterie wurde bis zu ihrem Ursprung aus der Aorta, dem *Truncus coeliacus*, ebenso freipräpariert und dargestellt. Dabei wurden die *A. gastrica dextra*, die *A. lienalis* sowie die *A. gastroduodenalis* doppelt ligiert und abgesetzt. Danach wurde die *infrahepatische Vena cava* freigelegt und von Bindegewebe bis zur Einmündung der rechten Nierenvene befreit. Im Anschluss daran wurden die Gefäße der rechten Niere und Nebenniere ligiert und abgesetzt. Jetzt ist die Leber ausreichend mobilisiert und kann soweit aus dem Situs exploriert werden, dass die Verbindungen der Leber mit dem Retroperitoneum durchtrennt werden können, damit die Leber nach der Perfusion und Absetzen der Gefäße aus dem Situs genommen werden kann. Bei Ex- und Implantation, sowie bei der Gefäßpräparation der Leber ist darauf zu achten, dass keine zu starke Manipulationen des Organs vorgenommen werden, da es dadurch zu einer Schädigung und Funktionseinschränkung des Transplantats nach der Transplantation kommen kann (182).

#### 4.4.1.2 Perfusion der Spenderleber

Für die Transplantation muss die Leber blutfrei sein, damit das Spenderblut nicht während der Konservierungsphase des Organs in den kleinen Gefäßen und Sinusoiden gerinnt und somit massive Durchblutungsstörungen hervorruft wenn der Blutfluss der Leber nach der Implantation wieder freigegeben wird. Wenn es zu einer intrahepatischen Thrombose auf Grund von mangelhafter Perfusion kommt, resultiert daraus ein Organversagen und somit auch der Tod der Empfängerratte.

Um diese Blutleere zu erreichen wurde die Leber mit 50 ml einer 4° C kalten 0,9 % NaCl-Lösung bei einem Druck von 100 mmHg perfundiert. Der verwendete Druck entspricht dem physiologischen Aortendruck der Ratte und die verwendete Perfusionsmenge entspricht dem zur Äquilibration erforderlichen 6-fachen des Organgewichts (77).

Für die Perfusion wurde die Aorta im Bereich der Bifurkation freipräpariert und eine Mikrogefäßklemme (Mehdorn-Bierner-Gefäßclip, Asculap AG&Co KG, Tutlingen, BRD) gesetzt. Dadurch staut sich das Blut kranial der Klemme und es ist so einfacher das Perfusionssystem einzuführen und es wird verhindert, dass das Perfusat in die untere Körperhälfte abfließt. Im nächsten Schritt wurde eine Gefäßklammer proximal des *Truncus coeliacus* gesetzt um den arteriellen Blutfluß zu unterbinden. In diesem Moment beginnt die Ischämie der Leber. Desweiteren wurde die *infrahepatische Vena cava* durch einen Gefäßclip verschlossen, damit kein venöses Blut aus der unteren Körperhälfte mehr die Leber erreichen kann. Danach wurde eine Perfusionskanüle (Venflon Pro 0,9 x 25 mm) in die abdominelle Aorta in Höhe der Bifurkation eingebracht.

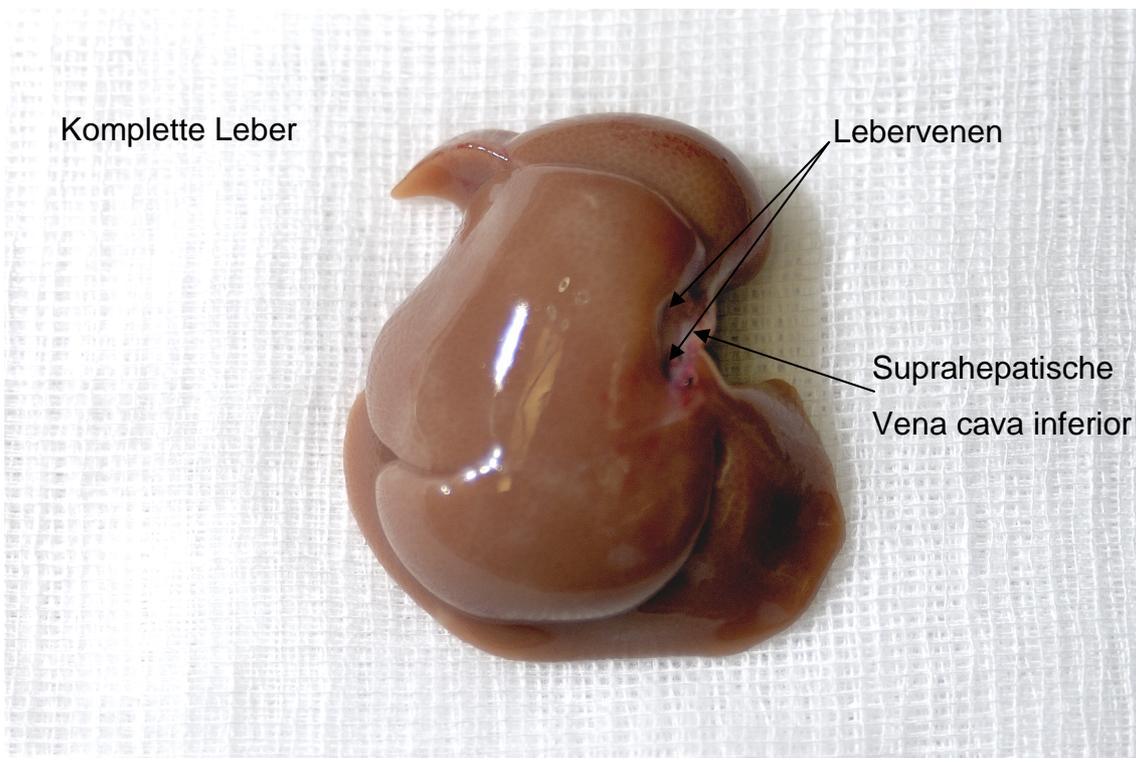


**Abbildung 7: OP-Situs nach Perfusion**

Anschließend wurde mit 0,9%iger NaCl-Lösung perfundiert, retrograd über die *Aorta abdominalis* bis zum *Truncus coeliacus*, von dort aus dann antegrad über die *Arteria hepatica communis* in die Leber, sowie antegrad über die *Arteriae mesentericae superior et inferior*, die Darmarterien und dann über den venösen Abfluß der unpaaren Bauchorgane über den Portalkreislauf, über die *V. portae*, in die Leber. Somit konnte eine komplette Perfusion und Blutleere der Spenderleber erreicht werden. Um einen Blut-/Perfusatstau in der Leber zu verhindern, was zu einer Druckschädigung des Leberparenchyms führen kann, wurde sofort nach Perfusionsbeginn die *suprahepatische Vena cava* durchtrennt um einen ungehinderten Abfluss zu gewährleisten. Nach der Perfusion wurde die Pfortader knapp oberhalb der Einmündung der *Vena lienalis* abgesetzt. Die *infrahepatische Vena cava* wurde kranial der Nierenveneneinmündung durchtrennt und die Arterie zusammen mit einem Aortensegment entnommen. Danach konnte die Leber aus dem Situs entnommen werden (98).

#### 4.4.1.3 Back-Table-Präparation

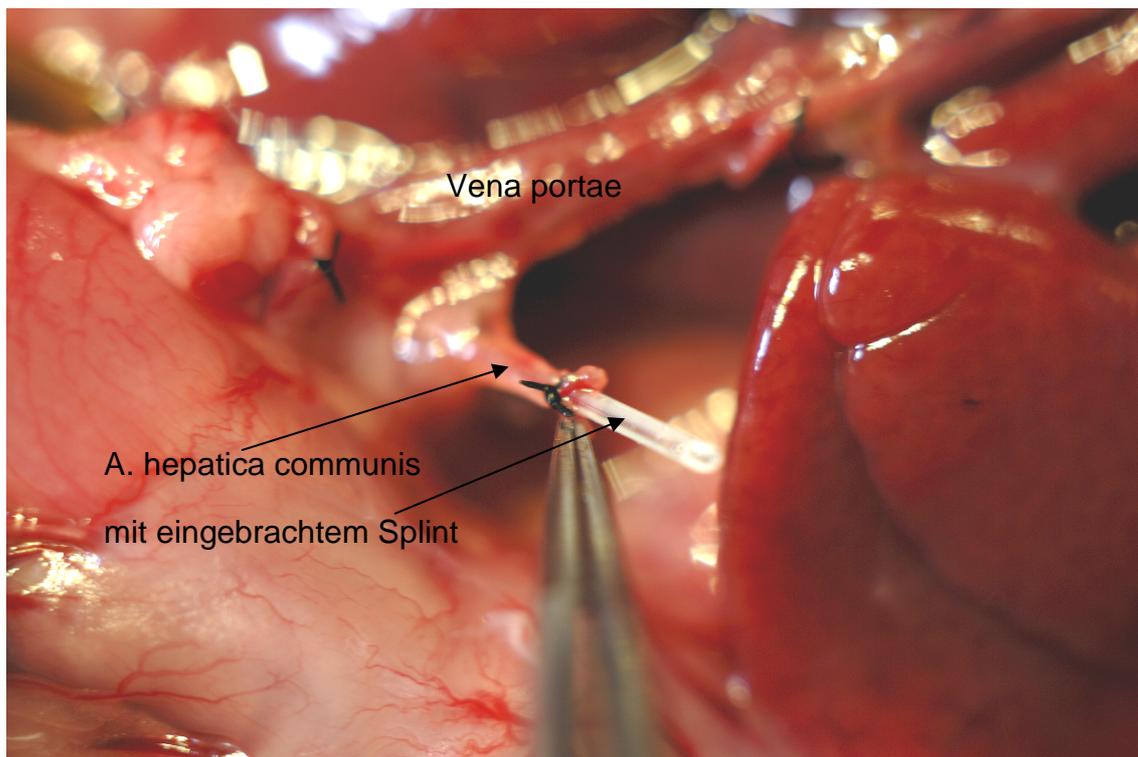
Nach der Leberentnahme wurde das Organ sofort in einen Behälter mit 4°C kalter 0,9%iger NaCl-Lösung gelegt. Im Anschluß daran erfolgt die Präparation und Vorbereitung der Spenderleber für die Transplantation. Die Leberarterie wurde für die Transplantation vorbereitet indem ein Aorten-Patch zurechtgeschnitten wurde, der für die Anastomosentechnik mit Splint benötigt wurde. Die *Vena cava* wurde ober- und unterhalb der Leber kontrolliert und von restlichem Bindegewebe befreit um Probleme bei den Anastomosennähten zu verhindern. Ebenso wurde die Pfortader für die Gefäßnaht kontrolliert und vorbereitet. Danach kam die Leber in dem NaCl-Gefäß für die Dauer der vorgegebenen kalten Ischämiezeit, in dieser Studie 1 h, in den Kühlschrank bei 4°C zur Aufbewahrung.



**Abbildung 8: Explantierte Leber, Back-Table**

#### 4.4.2 Transplantation

Die Explantation der Leber der Empfängerratte erfolgte in gleicher Weise wie die der Spenderleber, doch mit einigen operationsspezifischen Unterschieden. So wurde die Leberarterie nicht bis auf die Aorta freipräpariert, sondern es wurde in die Gefäßaufzweigung der *A. hepatica communis* in die *A. hepatica propria* und in die *A. gastroduodenalis* ein mit Heparin beschichteter Splint (BD Vasculon Plus 0,6 x 19 mm) eingesetzt der später bei der Transplantation mit dem Aorten-Patch der Spenderleber anastomosiert wurde (98).



**Abbildung 9: Arteria hepatica communis mit Arteriensplint**

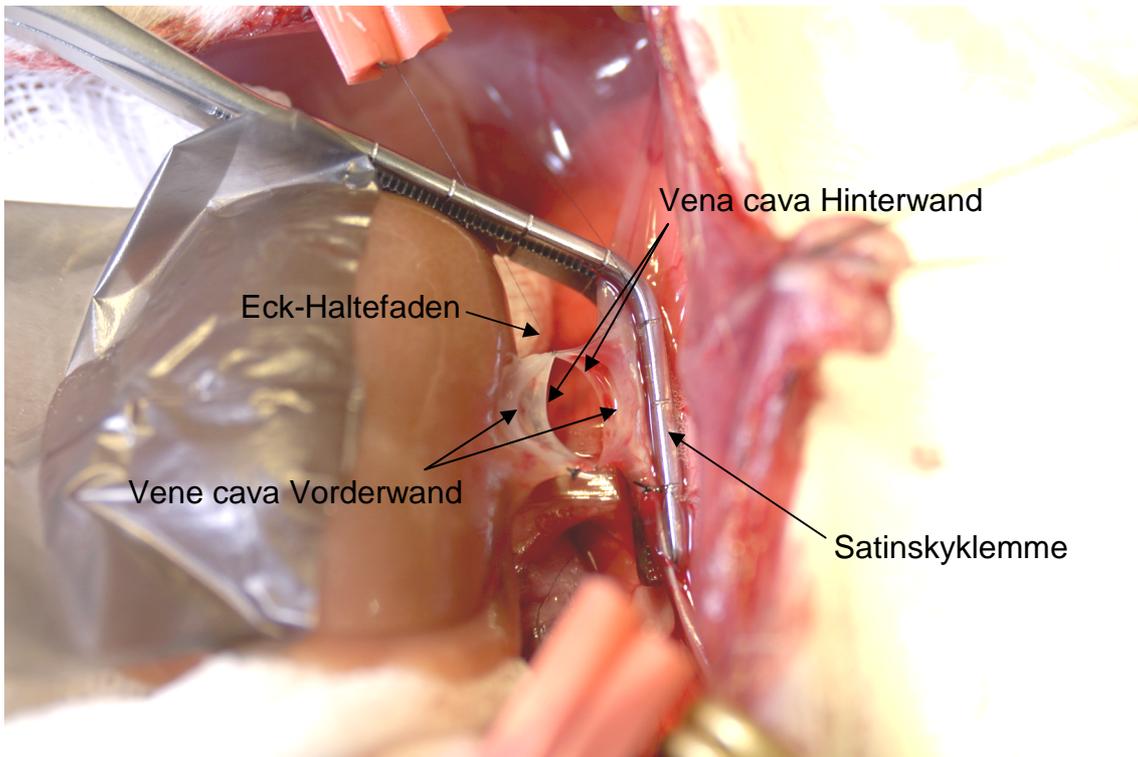
Für die Positionierung des Splints wurde die *A. hepatica communis* freipräpariert und mit einem Gefäßclip abgeklemmt. Danach wurden die *Aa. hepatica propria et gastroduodenalis* ligiert. Im Anschluß daran wurde die Gefäßgabel inzidiert und der Splint eingeführt sowie mittels Ligatur (Pharma-Hand Seide, 7/0) in der optimalen Position fixiert.

Der Gallengang, die Pfortader sowie die *Vena cava* wurden im Gegensatz zur Spenderoperation nach der Freipräparation organnah abgesetzt um eine ausreichende Länge für die spätere Anastomose zur Verfügung zu stellen. Die

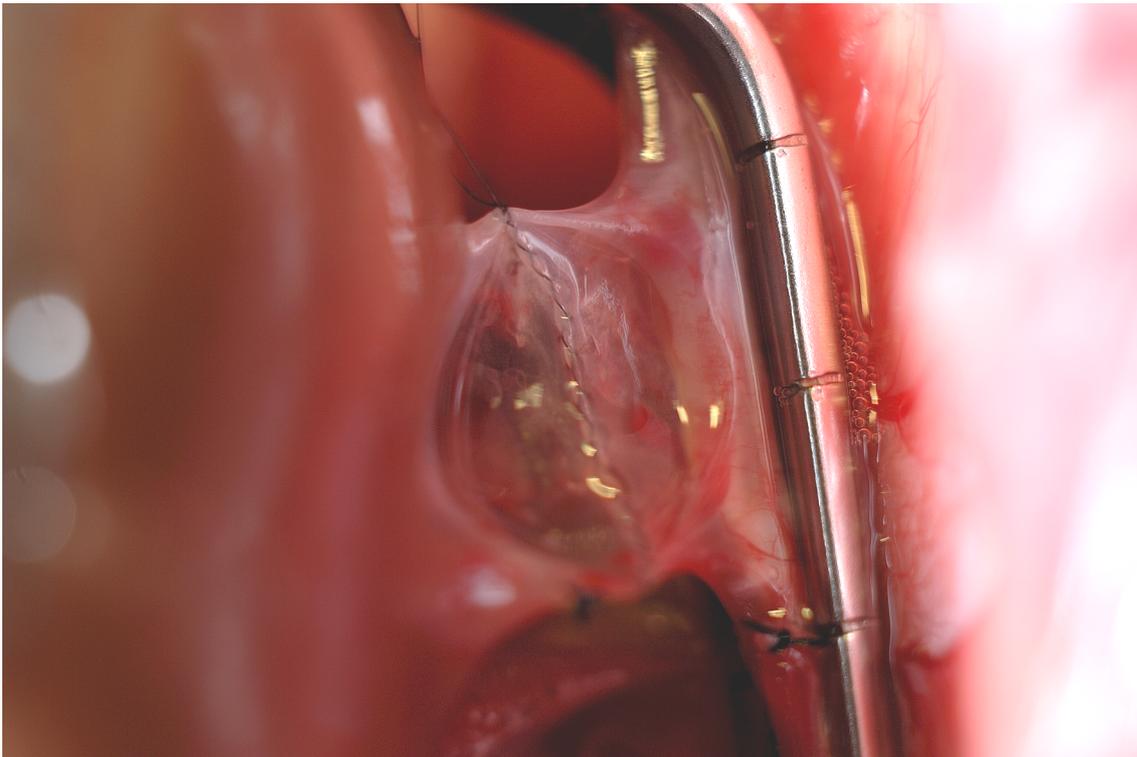
rechte Nierenvene und Nierenarterie wurden hierbei nicht ligiert. Vor dem Absetzen der Gefäße wurde die Pfortader, ebenso wie die *infrahepatische Vena cava* durch einen Gefäßclip verschlossen. Die *suprahepatische Vena cava* wurde durch eine *Satinsky-Klemme* abgeklemmt, was in diesem Bereich zu Problemen führen konnte, wenn das angrenzende Zwerchfell zu stark mit eingeklemmt wurde und es dadurch zu einer Reizung des *Nervus phrenicus* und so zu einer Beeinträchtigung der Atmung kam. Ab dem Zeitpunkt des Verschlusses der *Satinsky-Klemme* begann für das Empfängertier die anhepatische Phase, die in dieser Form, ohne einen veno-venösen Bypass (femoro-porto-axillär), für max 30 min toleriert wird bevor es zur Kreislaufinsuffizienz bzw. Kreislaufversagen kommt (111).

Die Lebertransplantation ohne Bypass hat Vorteile bezüglich der Operationszeit, birgt aber auch Risiken, die berücksichtigt werden müssen. Eine Transplantation ohne Bypass ist eine starke Belastung für das Herzkreislaufsystem und auf Grund der Stauung für die Nierenfunktion des Empfängers. Die Verwendung eines Bypasses birgt aber auch gewisse Risiken, wie Thrombosen und Luftembolien. Aber ohne Bypass können kürzere Operationszeiten erreicht werden (76,99).

Danach wurde die Spenderleber orthotop in den Situs gelegt und die zu- bzw. abführenden Gefäße anastomosiert. Als erstes wurde die *suprahepatische Vena cava inferior* mit 9/0 Prolene (Fa. Ethicon, Norderstedt, BRD) und einer fortlaufenden Hinterwand- und Vorderwandnaht in mikrochirurgischer Technik genäht.



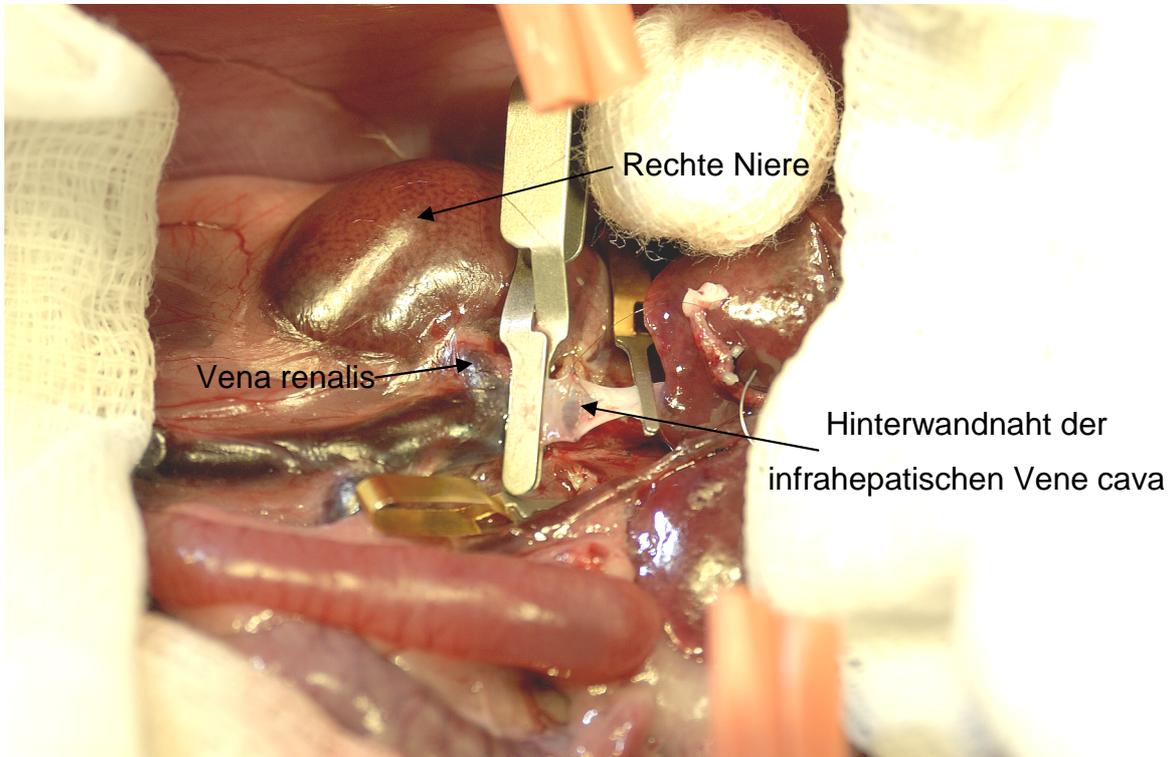
**Abbildung 10: Vorbereitung der VCS zur Naht**



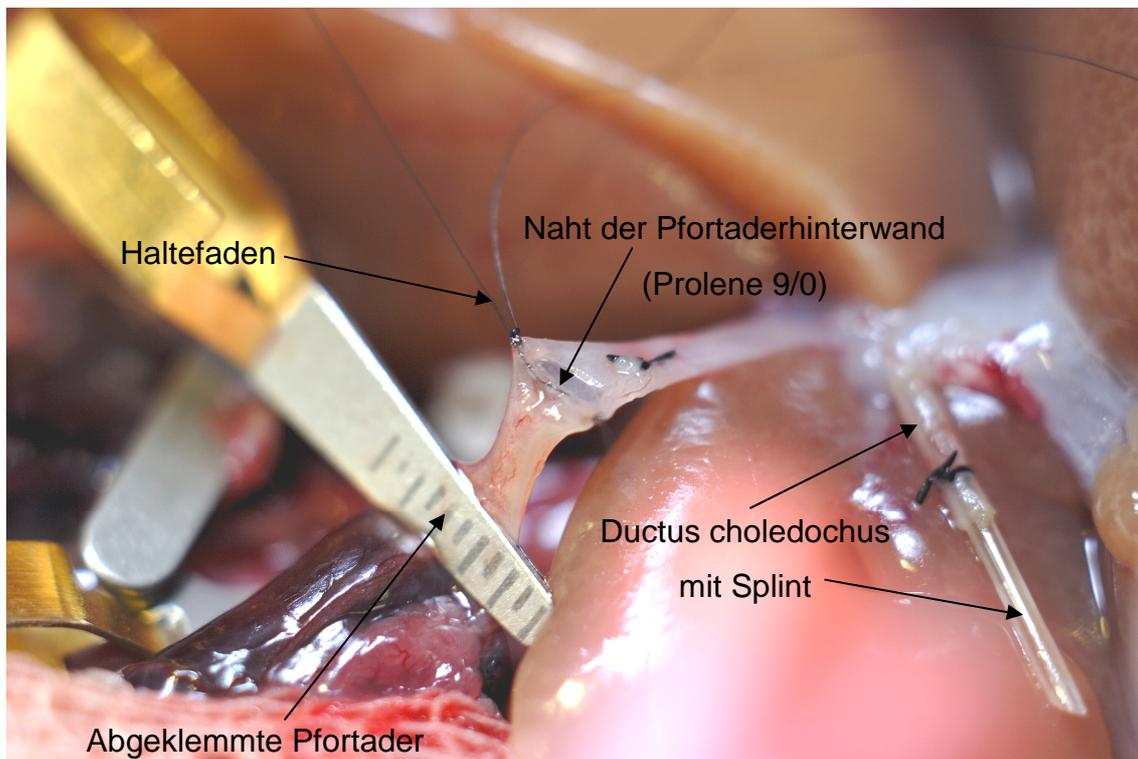
**Abbildung 11: Fortlaufende Naht der Hinterwand der VCS**

Vor der endgültigen Fertigstellung der Gefäßanastomose muss der Bereich geflusht werden um die eingeschlossene Luft zu entfernen

damit eine Luftembolie verhindert wird. Danach wurde je nach Studiengruppe entweder die *intrahepatische Vena cava inferior* (bei Gruppe III) oder die Pfortader (Gruppe I und II) ebenfalls mit 9/0 Prolene in gleicher Weise in mikrochirurgischer Technik genäht.

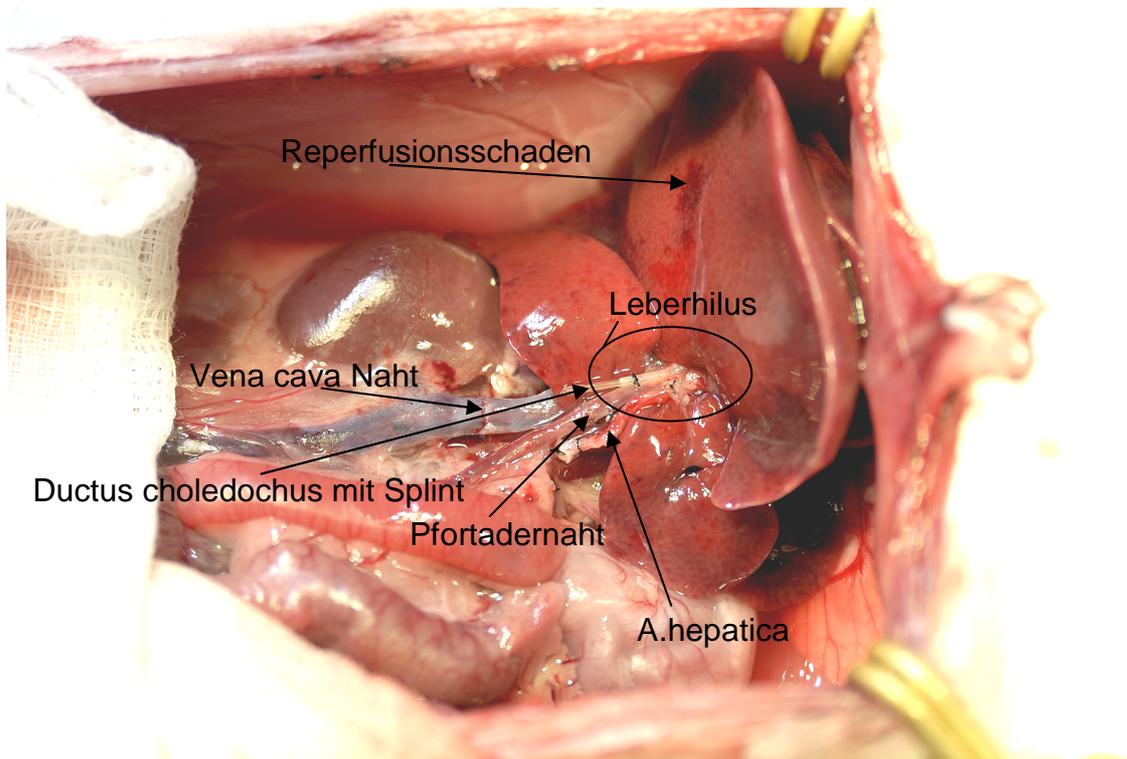


**Abbildung 12: Naht der VCI**

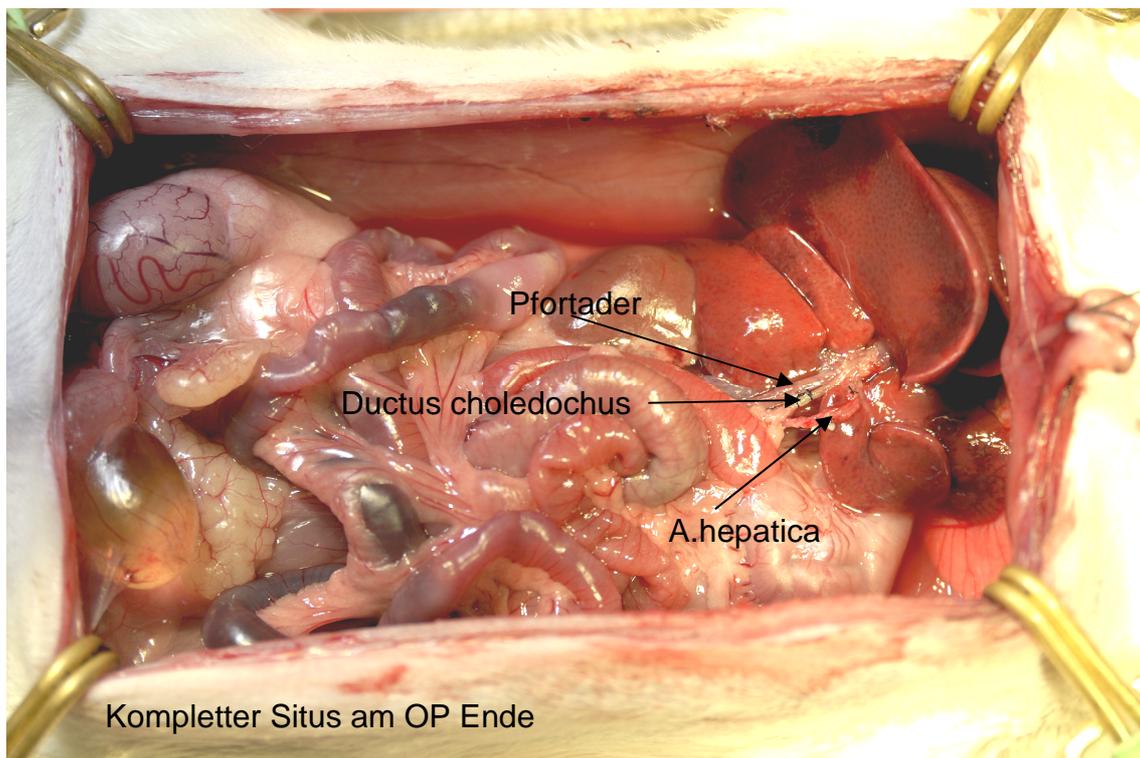


**Abbildung 13: Naht der Portader**

Der Aortenpatch der Spenderleber wurde auf den Splint, der in der *A. hepatica communis* steckt, aufgezogen und mit einem Haltefaden fixiert. Kann ein deutliches Pulsieren der Spenderarterie nach Freigabe der Durchblutung durch die Klammerentfernung beobachtet werden, kann man von einer guten arteriellen Durchblutung des Organs ausgehen. Nach den Gefäßanastomosen und der Freigabe der Durchblutung je nach Studiengruppe wurde noch der Gallengangs Splint in den Empfängergallengang eingeführt und fixiert (Pharma-Hand Seide, 7/0).



**Abbildung 14: OP- Situs nach Reperfusion**



**Abbildung 15: OP- Situs mit allen Anastomosen**

Bei allen Versuchstieren dieser Studie konnte zu diesem Zeitpunkt schon eine Galle-Produktion der Transplantatleber beobachtet werden,

was ein Zeichen ist, dass das Organ seine Funktion aufgenommen hat. Der Situs wurde mit 0,9% NaCl-Lösung gespült und dann das Abdomen in zwei Schichten (Muskel/Faszie und Haut) verschlossen.

#### **4.5 Operation der Gruppe IV**

Die Empfängertiere der Gruppe IV wurden initial genauso operiert wie eine mögliche Empfängerratte, um das operative Trauma zu imitieren. Das Abdomen wurde präpariert und eröffnet und im Anschluss daran wurde wie bei einer geplanten LTx die Hepatektomie vorbereitet, jedoch nicht durchgeführt. Nach Abschluss der kompletten operativen Gefäßpräparation wurden die relevanten Gefäße (*suprahepatische Vena cava inferior*, *Pfortader* und *infrahepatische Vena cava inferior*) für die komplette Zeitdauer der anzunehmenden anhepatischen Phase von 20 min wie bei einer LTx ausgeklemmt. Nach Ablauf dieser 20 min wurde aus den 3 ausgeklemmten Gefäßen, die bei der Reperfusion eine Rolle spielen, vor Eröffnung der Gefäßklemmen Blutproben zur Blutgasanalyse entnommen.

#### **4.6 Postoperative Nachsorge**

Nach der Transplantation wurden die Ratten in einen Käfig gesetzt und überwacht, bis sie aus der Narkose erwachten, die Stellreflexe wieder voll ausgeprägt waren und mit der Flüssigkeitsaufnahme begonnen wurde. Danach wurde der Käfig für 12 h unter eine Wärmelampe gestellt. Die Ratten hatten zu diesem Zeitpunkt wieder freien Zugriff auf Futter und Wasser. In einem Intervall von 12 h bekamen die Ratten zur Schmerztherapie eine Injektion von 0,1ml *Temgesic*® (Buprenorphin). Die Beobachtungszeit in dieser Studie betrug 48 h.

Bei den Gruppen I-III wurde in definierten Zeitabständen von 1 h, 24 h und 48 h postoperativ Blut abgenommen und die Werte von Glutamat-Oxal-Acetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), gesamt Bilirubin, Gamma-Glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GT), alkalische Phosphatase (AP) und Glutamatdehydrogenase (GLDH) bestimmt. Nach der letzten Blutentnahme 48 h nach der Transplantation wurde die Leber entnommen um sie einer histologischen Untersuchung zu zuführen. Bei dieser Operation wurden die mikrochirurgisch genähten Gefäßansatomosen auf

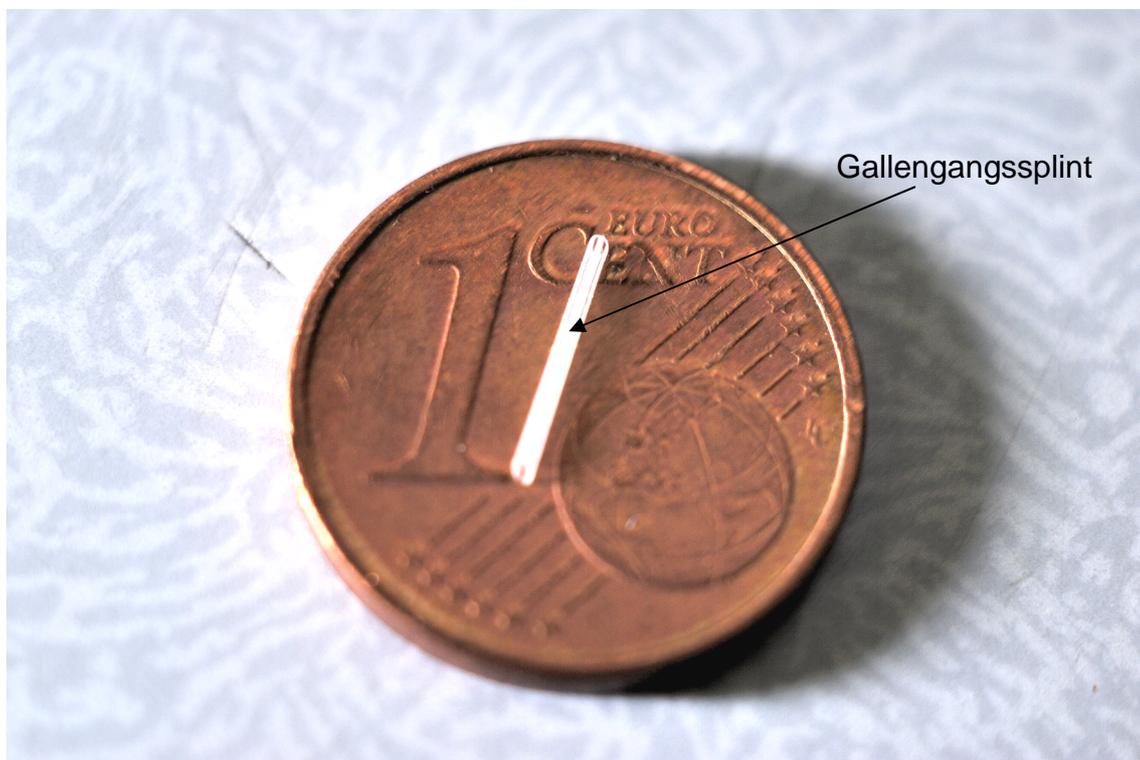
Durchlässigkeit überprüft um eine anastomosenbedingte Transplantatdysfunktion ausschließen zu können. Im Rahmen dieses Eingriffs wurden die Tiere sakrifiziert.

#### **4.7 Relevante Komplikationen nach Lebertransplantation**

Bei einer Lebertransplantation können Probleme bei der Spenderoperation, bei der Organkonservierung und bei der Implantation des Organs auftreten.

Bei der Organentnahme ist stets darauf zu achten, dass das Organ nicht zu sehr durch Manipulationen geschädigt wird, da das schon eine Auswirkung auf die Organfunktion nach Transplantation hat. Desweiteren muß bei dieser mikrochirurgischen Operation unter dem Mikroskop sehr sorgfältig gearbeitet werden, um das Gewebe, Gefäße und die zarten Strukturen nicht zu zerstören.

Auf Grund der Größenverhältnisse ist das Einführen der Splinte mit einem gewissen Schädigungsrisiko verbunden, was unbedingt zu vermeiden ist um die Funktionalität der Steckverbindungen nicht einzuschränken.



**Abbildung 16: Gallengangssplint im Größenvergleich zur 1 Cent Münze**

Bei unseren Tieren traten keine postoperativen Probleme auf. Die Tiere befanden sich in gutem Allgemeinzustand. Das 48 h-Überleben in den Gruppen I – III betrug 100 %.

## **4.8 Laboranalytik (Serumchemie)**

Zur Bestimmung und Evaluierung des Leberschadens nach der Transplantation wurden verschiedene Parameter und die Leberwerte im Serum bestimmt. Für die Blutwertbestimmung wurden die Tiere zu definierten Zeiten, 1 h, 24 h und 48 h postoperativ wieder durch Isofluran in Narkose gelegt und die V. femoralis für die Probenentnahme in der Leiste freipräpariert. Dann wurde mit einer heparinisierten Spritze 0,8 ml Blut entnommen. Das Blut wurde dann für 10 min bei 3000 u/min abzentrifugiert (EBA 12; Fa. Hettich, Tuttlingen, BRD) und so das Serum gewonnen. Das Serum wurde bei - 80° C bis zur Bestimmung der Werte im Institut für klinische Chemie der TU München konserviert.

Aus dem Serum wurden die Werte **GOT**, **GPT**, **gesamt Billirubin**, **γ-GT**, **AP** und **GLDH** bestimmt. Die genannten Leberfunktionsparameter wurden nach Standardmethoden der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie im Mikroanalysegerät (Hitachi® 747, Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, Klinikum rechts der Isar der TU München) photometrisch bestimmt.

### **4.8.1 Transaminasen (GOT/GPT)**

Die zentrale Aufgabe der Transaminasen **GOT (AST)** und **GPT (ALT)** ist der Abbau von Aminosäuren durch Desaminierung. Obwohl die Transaminasen in vielen Geweben vorkommen, kommt es durch die stark unterschiedlichen Organkonzentrationen zu einer Organselektivität. Die GPT kommt überwiegend in der Leber und dort im Zytoplasma der Hepatozyten vor. Die GOT ist in Leber, Herz und Skelettmuskulatur lokalisiert und kommt dort auch in den Mitochondrien vor (31,44). Auf Grund dieser Tatsache kann man über die Werte im Serum einen Rückschluss über die Lokalisation der Schädigung treffen. Ein erhöhtes GOT bedeutet eine stärkere Schädigung da auch die Mitochondrien in

Mitleidenschaft gezogen wurden.

#### **4.8.2 Bilirubin**

Das **Bilirubin** entsteht beim Abbau von Häm und anderen Porphyrinen im Körper und wird als indirektes Bilirubin an Albumin gebunden und zur Leber transportiert. Dort wird es in die Hepatozyten aufgenommen und durch die Glukuronidierung in wasserlösliches direktes Bilirubin gewandelt um es ausscheidbar zu machen. Für die Interpretation des Gesamt-Bilirubinwertes muß ein prähepatischer Ikterus sowie ein posthepatischer Ikterus im Sinne einer Galleabflussstörung ausgeschlossen werden. Für einen prähepatischen Ikterus gab es in dieser Studie keinen Anhalt. Eine mögliche Galleabflussbehinderung wurde bei der Hepatektomie nach 48 h durch optische Kontrolle der Leber sowie Kontrolle der Gallengangsverbindung ausgeschlossen. Liegt nun ein erhöhter Wert des Bilirubins vor, handelt sich um eine Leberfunktionsstörung bzw. um einen Energiemangel der Hepatozyten, da die Leberzellen für die Aufnahme des Bilirubins, den Bilirubinstoffwechsel sowie für die Exkretion Energie benötigen. Dabei stellt die Exkretion des Bilirubins den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar.

#### **4.8.3 Gamma-Glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GT)**

Die  **$\gamma$ -GT** kommt auch in mehreren Organen vor. Ihre Aufgabe liegt darin, dass sie beim Transport von Aminosäuren in die Zelle beteiligt ist. Die  $\gamma$ -GT ist an Strukturen der Zellmembranen angelagert und kann von dort z.B. durch eine Cholestase von der Zelle abgelöst werden und so ins Serum gelangen. Sie ist ein Marker für die Galle-Produktion bzw. Abflussstörung in der Leber (44).

#### **4.8.4 Alkalische Phosphatase (AP)**

Die AP liegt in Form von mehreren Isoenzymen in mehreren Organen vor. Zum einen gibt es die plazentare sowie die intestinale AP, zum anderen kommt sie auch in der Leber, Knochen und in den Nieren vor. Die Bestimmung der AP erfolgt bei Knochenerkrankungen mit erhöhter Osteoblastentätigkeit sowie bei der Differenzialdiagnose von Leber- und Gallenwegserkrankungen. Da das Enzym intrahepatisch vor allem in den Gallengangsepithelien vorkommt, erfolgt

ein vermehrter Übertritt ins Serum bei Läsionen der Epithelien und bei erhöhtem intrakanalikulärem Druck infolge einer Cholestase. Bei allen intra- und extrahepatischen Cholestasen steigt die AP mäßig bis stark an. Bei Leberparenchymschäden, z.B. bei einer Virushepatitis, findet man dagegen in der Regel nur eine leichte AP-Erhöhung (44,104).

#### **4.8.5 Glutamatdehydrogenase (GLDH)**

Die GLDH ist überwiegend in den Mitochondrien der Leberzellen lokalisiert und somit wie die GOT ein Marker für eine dortige Schädigung. Die GLDH ist Teil des Stickstoffmetabolismus. Im ZNS besteht ihre Aufgabe in der Bindung von Ammoniak. Die höchste Konzentration in der Leber befindet sich in den zentroazinären Zellen und somit kommt es dann zu den höchsten Enzymaktivitätsanstiegen wenn diese Zellen zu Grunde gehen. Durch die GLDH kann man den Schweregrad der Leberschädigung abschätzen. Die höchsten GLDH-Werte findet man bei Leberzellschäden mit Zerstörung der Mitochondrien, also bei Vergiftungen (Pilze, Cytostatika) sowie bei akuten Durchblutungsstörungen der Leber. Erhöhungen auf mehr als das Dreifache des Referenzbereichs deuten auf eine schwere Leberschädigung mit Nekrosen hin (44,104).

#### **4.9 Blutgasanalyse**

Bei der Gruppe IV wurde die Blutgasanalyse in den einzelnen Gefäßabschnitten (*infrahepatische Vena cava inferior* = VCI, *suprahepatischen Vena cava inferior* = VCS, *Pfortader* = Portal Vene = PV) zum Zeitpunkt der Reperfusion bestimmt und untersucht. Nach der Präparation wurde aus den genannten Gefäßabschnitten mit einer Spritze jeweils 0,8 ml Blut entnommen und mittels eines Blutgasanalysegerätes folgende Werte bestimmt: Blut-pH-Wert (**pH-Wert**), der Kohlendioxidpartialdruck (**pCO<sub>2</sub>**), der Sauerstoffpartialdruck (**pO<sub>2</sub>**), der Base Excess (**BE**) sowie die Sauerstoffsättigung (**sO<sub>2</sub>**).

### **4.9.1 pH-Wert**

Der pH-Wert ist das Maß für die freie Wasserstoffionen-Konzentration. Im Blut wird er entscheidend durch die Art und Menge der Pufferbasen bestimmt, die  $H^+$ -Ionen binden können. Der physiologische pH-Wert wird im wesentlichen von vier Puffersystemen bestimmt: das Bicarbonat System, die Proteinanionen, das sekundäre Phosphat ( $HPO_4^{2-}$ ) und das in den Erythrozyten vorliegende Hämoglobin.

### **4.9.2 pCO<sub>2</sub>**

Der pCO<sub>2</sub> ist ein Parameter für den Stoffwechsel und Energieverbrauch sowie für den Gasaustausch der Lunge.

### **4.9.3 pO<sub>2</sub>**

Der pO<sub>2</sub> wird als zusätzlicher, von den Puffersystemen im Organismus unabhängiger Parameter zur Beurteilung respiratorischer Störungen eingesetzt. Eine Verminderung des pO<sub>2</sub> im Blut tritt auf bei Reduzierung der Atemfunktion bzw. bei gesteigertem Sauerstoffverbrauch im Organismus.

### **4.9.4 Base Excess (BE)**

Der BE zeigt an, um wie viel die aktuelle Konzentration an Gesamtpufferbasen von ihrem normalen Ausgangswert abweicht und gibt damit den Verbrauch oder die Akkumulation von Pufferbasen an. Der BE kann positiv sein (Konzentration an Pufferbasen ist erhöht = Akkumulation von Pufferbasen) oder negativ sein (Konzentration an Pufferbasen ist vermindert = Verbrauch von Pufferbasen). Der Wert ist bis zu einem geringen Grad unabhängig vom begleitenden pH-Wert und kann damit selbst bei normalem pH-Wert das Ausmaß einer Säure-Basen-Dysregulation anzeigen. Die Angabe des BE ist damit hilfreich, um eine metabolische Kompensation zu erkennen (44).

Ein positiver BE bedeutet, es liegt ein Basenüberschuss vor, was z.B. bei einer metabolischen Alkalose auftritt.

Ein negativer BE bedeutet ein Überschuss an Säure, was z.B. bei einer metabolischen Azidose der Fall ist.

#### **4.9.5 sO<sub>2</sub>**

Die sO<sub>2</sub> gibt den prozentualen Anteil des Hämoglobins an, der mit Sauerstoff gesättigt ist. Die Sättigung ist abhängig vom pH-Wert der Blutprobe, vom pO<sub>2</sub>, von der Temperatur und vom Gehalt an 2,3-Bisphosphoglycerat (2,3-BPG). Eine reduzierte Sättigung zeigt einen vermehrten Sauerstoffverbrauch an, kann aber auch auf eine Gasaustauschstörung in der Lunge oder ein zu geringes Sauerstoffangebot hinweisen (154).

### **4.10 Histologie**

Für die histologische Untersuchung und Bestimmung des morphologischen Organschadens wurde das transplantierte Organ 48 h nach der Transplantation entnommen und in Formalin fixiert. Hierfür wurden die Tiere in eine Isoflurannarkose gelegt und eine Laparotomie durchgeführt um die Leber entnehmen zu können. Die Tiere wurden hiernach lege artis sakrifziert.

Aus den formalinfixierten Gewebeproben wurden HE-Schnitte angefertigt und durch das Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie des Klinikum rechts der Isar der TU München blind befundet und ausgewertet. Bestimmt wurden die Anzahl der Nekroseherde in den einzelnen Gruppen, sowie deren Größe. Für diese Untersuchung wurden repräsentative Proben aus den jeweilig gleichen Leberanteilen genommen. Proben: rechte Hälfte des *Lobus medianus*, der *Lobus lateralis dexter* und der *Lobus lateralis sinister*.

### **4.11 Statistische Auswertung**

Von allen bestimmten Werten wurde der arithmetische Mittelwert (mean) sowie die Standardabweichung vom Mittelwert, innerhalb einer Gruppe berechnet. Alle Werte werden in dieser Arbeit als Mittelwert ± Standardabweichung des Mittelwertes aufgeführt. Die statistische Auswertung und die Berechnung des Signifikanzniveaus erfolgten mit einem kommerziell erhältlichen Statistikprogramm (SPSS, Version 14). Die graphischen Darstellungen der Ergebnisse wurden mit dem kommerziell erhältlichen

Statistikprogramm „Microsoft Excel“ für Office XP erstellt.

Für die Auswertung und den Vergleich der Werte von mehr als zwei Gruppen wurde die „one-way ANOVA“ Varianzanalyse verwendet. Sind 2 Gruppen direkt miteinander verglichen worden, kam als „post hoc test“ der t-Test zur Anwendung. Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert kleiner 0,05 angenommen. Als Tendenz galt ein p-Wert kleiner 0,15.

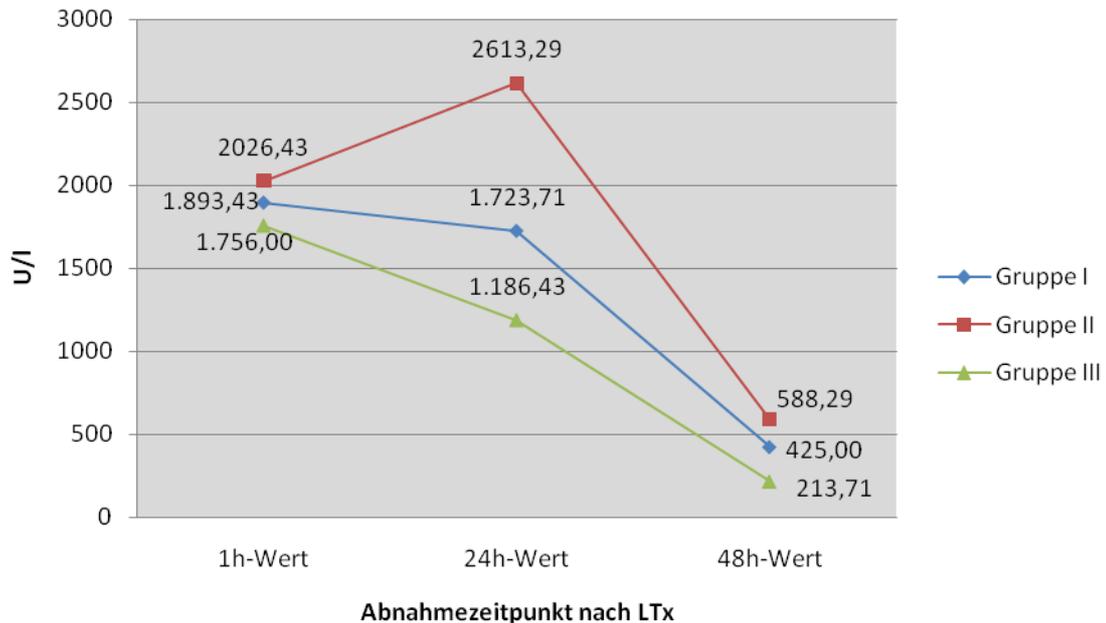
Bei der Auswertung der Blutgaswerte wurde für die statistische Berechnung der Signifikanz bei den Werten  $p\text{CO}_2$  und  $p\text{O}_2$  der T-Test verwendet. Bei den nichtparametrischen Werten pH, BE und  $s\text{O}_2$  wurde der Mann-Whitney-Test verwendet. Als statistisch signifikant wurde auch hier ein p-Wert kleiner 0,05 angenommen.

Bei der statistischen Auswertung der histologischen Ergebnisse kam auf Grund einer nicht anzunehmenden Normalverteilung der „exakte Test nach Fischer“, sowie der „Kruskal Wallis Test“ zur Anwendung.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Laboranalytik

#### 5.1.1 GOT-Verlauf



**Abbildung 17: GOT Aktivität im Serum**

Signifikanzen nach 24 h: zwischen **Gruppe I** und **Gruppe II**:  $p=0,008$ ; zwischen **Gruppe II** und **Gruppe III**:  $p<0,001$

Signifikanzen nach 48 h: zwischen **Gruppe I** und **Gruppe II**:  $p=0,039$ , zwischen **Gruppe I** und **Gruppe III**:  $p=0,01$ ; zwischen **Gruppe II** und **Gruppe III**  $p<0,001$

Es ist deutlich zu sehen, dass 1 h nach Transplantation der GOT-Wert in allen Gruppen stark angestiegen war. Dies bedeutet, dass durch die Operation/Transplantation ein massiver Schaden in der Transplantatleber entstand.

In der **Gruppe I** wurde 1 h postoperativ ein Wert von  $1893,4 \pm 402$  U/L gemessen, der dann, nach 24 h auf  $1723,7 \pm 235,5$  U/L gesunken ist. Im weiteren Verlauf sank der Wert auf  $425 \pm 86,9$  U/L 48 h nach der Operation. Bei der **Gruppe II** ist sogar ein Anstieg der GOT-Aktivität von dem 1 h-Wert von  $2026,4 \pm 350,7$  U/L bis auf  $2613 \pm 343,9$  U/L 24 h postoperativ zu verzeichnen.

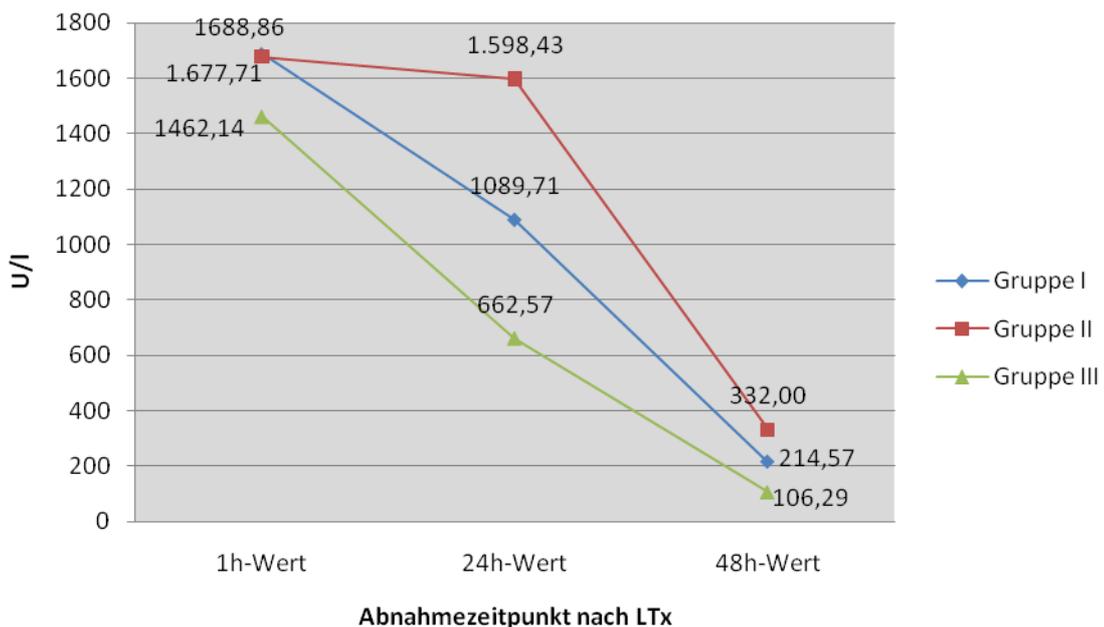
Erst nach 48 h zeigte sich in dieser Gruppe ein Rückgang des Wertes auf  $588,3 \pm 67,9$  U/L.

Es ist deutlich zu erkennen dass die **Gruppe III** mit dem 1 h-Wert von  $1756 \pm 367,3$  U/L den geringsten Anstieg aufweist und auch am schnellsten wieder mit dem Wert abfällt. Das Maximum liegt hier schon bei dem 1 h-Wert. Nach 24 h ist bereits ein Rückgang der Aktivität auf  $1186,4 \pm 252,9$  U/L zu verzeichnen und nach 48 h war die GOT bereits auf  $213,7 \pm 44,1$  U/L gefallen. Im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen liegt das Maximum der Zellschädigung bei einer Stunde – oder früher - postoperativ. Nach 48 h liegen die Werte der **Gruppe I und Gruppe II** noch um den Faktor 1,9 -2,7 über der **Gruppe III**

Signifikanzen ( $p < 0,05$ ) bei der GOT waren bei den Werten 24 h nach der Transplantation zu finden. Im direkten Vergleich unterschieden sich die Werte der **Gruppe I und II** sowie die der **Gruppe II und III**. Die **Gruppe I** zeigte keine signifikanten Unterschiede zur **Gruppe III** 24 h nach der Lebertransplantation.

48 h nach der Operation konnten signifikante Unterschiede zwischen allen 3 Gruppen festgestellt werden.

## 5.1.2 GPT-Verlauf



**Abbildung 18: GPT Aktivität im Serum**

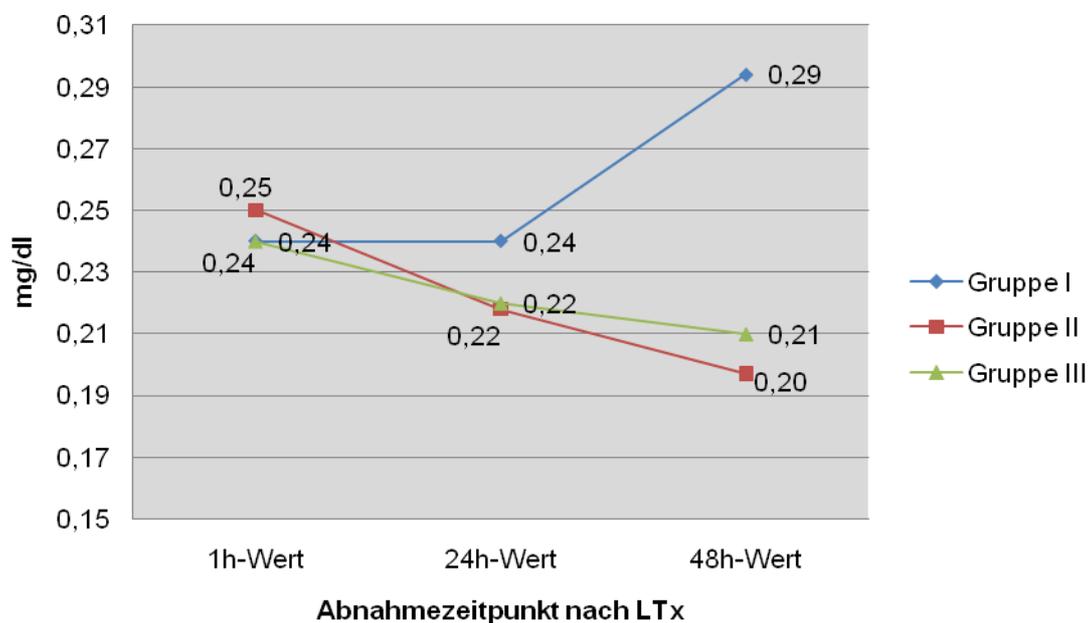
Signifikanzen nach 24 h: zwischen **Gruppe I** und **Gruppe II**:  $p=0,009$ , zwischen **Gruppe I** und **Gruppe III**:  $p=0,025$ , zwischen **Gruppe II** und **Gruppe III**:  $p<0,001$

Signifikanzen nach 48 h: zwischen **Gruppe I** und **Gruppe II**:  $p=0,016$ ; zwischen **Gruppe I** und **Gruppe III**:  $p=0,024$ ; zwischen **Gruppe II** und **Gruppe III**:  $p<0,001$

Der GPT-Wert ist ebenfalls nach der Transplantation stark erhöht und erreicht sein Maximum in allen Gruppen 1 h bzw. schon früher postoperativ. In der **Gruppe I** erreichte der Wert 1 h nach der LTx  $1688,86 \pm 442,8$  U/L. Im weiteren Verlauf fiel er auf  $1089,71 \pm 171,02$  U/L nach 24 h. Nach 48 h lag er nur noch bei  $214,57 \pm 46,1$  U/L. Der Spitzenwert der **Gruppe II** liegt bei  $1677,71 \pm 285,85$  U/L und fällt ebenfalls, aber erst nicht so stark wie Gruppe I, auf  $1598,43 \pm 159,36$  U/L nach 24 h. Innerhalb der nächsten 24 h sank der Wert dann aber stark ab und erreichte einen Wert von  $332,0 \pm 43,9$  U/L beim 48 h-Wert. Die geringsten Durchschnittswerte der GPT-Aktivitäten waren auch hier in der **Gruppe III** festzustellen. Der Startwert, 1 h postoperativ, lag bei  $1462,14 \pm 357,52$  U/L und fiel auf  $662,57 \pm 160,7$  U/L nach 24 h. 48 Stunden nach der Transplantation war nur noch eine Aktivität von  $106,29 \pm 31,99$  U/L zu

messen. Signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) der Mittelwerte der Serumaktivitäten lagen zwischen allen 3 Gruppen bei den Werten 24 h und 48 h nach der Transplantation vor. Da es sich eher um ein zytosolisches Enzym handelt spiegelt es einen entstandenen Schaden in diesem Bereich wieder. Auch hier ist zu sehen, dass die **Gruppe III** den geringsten Anstieg aufweist. Nach 48 h liegen die Werte der **Gruppe I und Gruppe II** immer noch mit dem Faktor 2,01 bzw 3,12 über dem Wert der **Gruppe III**

### 5.1.3 Bilirubin-Verlauf

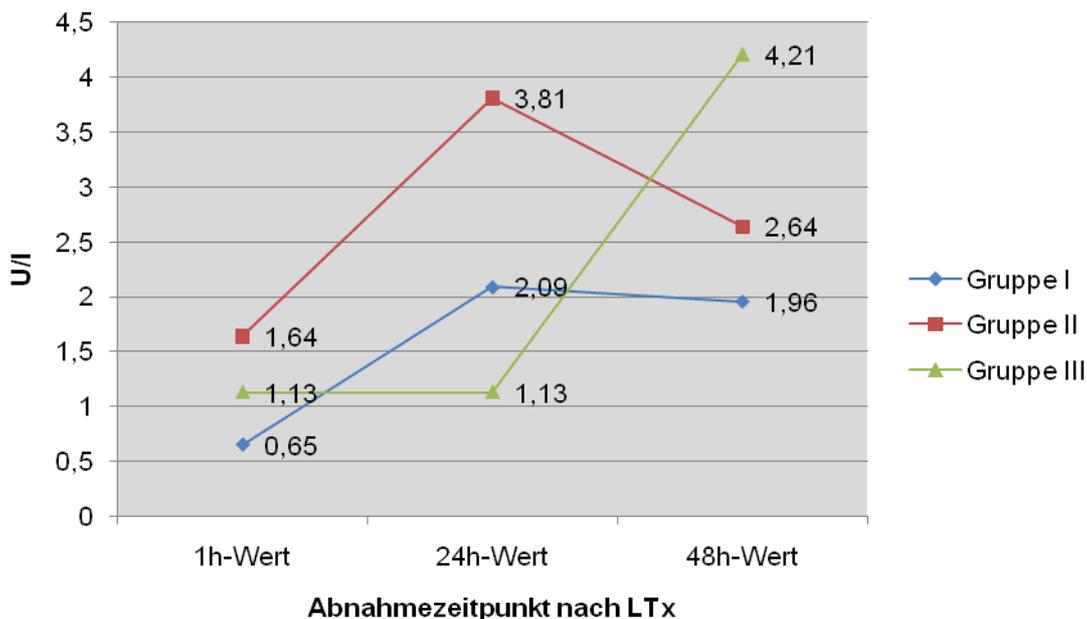


**Abbildung 19: Bilirubinkonzentration im Serum**

Keine Signifikanzen feststellbar

Die Bilirubinwerte zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Eine Besonderheit hier ist, dass der Bilirubinwert der **Gruppe I** von 24 h bis 48 h postoperativ ansteigt und man nicht sagen kann ob das Maximum erreicht wurde.

### 5.1.4 $\gamma$ -GT-Verlauf



**Abbildung 20:  $\gamma$ -GT Aktivität im Serum**

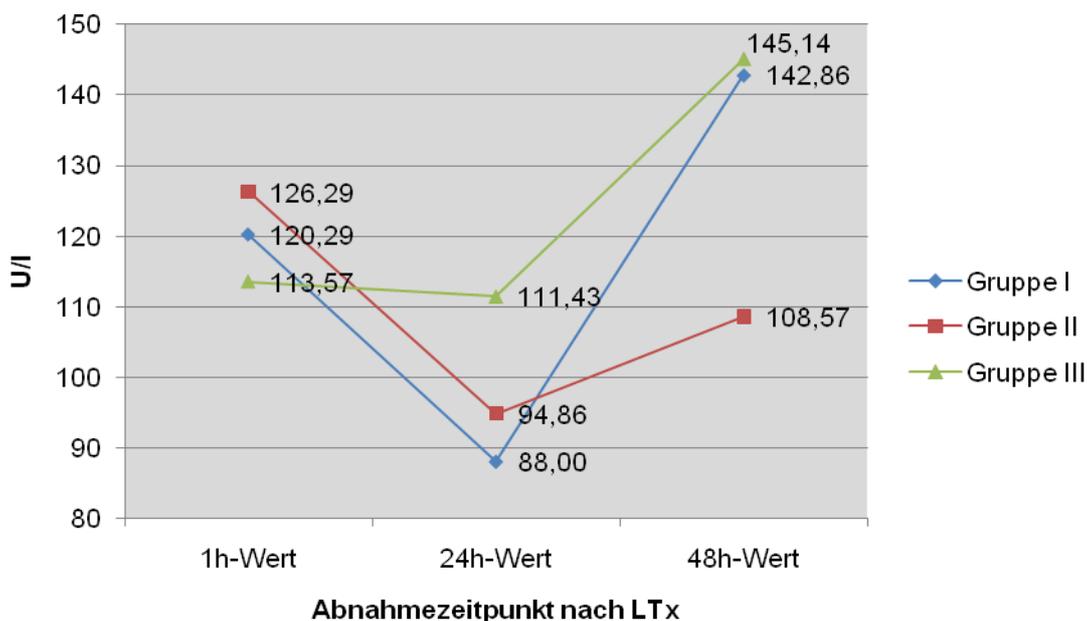
Signifikanzen nach 24 h: zwischen **Gruppe II** und **Gruppe III**:  $p=0,032$

Tendenz nach 1 h: zwischen **Gruppe I** und **Gruppe II**:  $p=0,057$

Tendenz nach 24 h: zwischen **Gruppe II** und **Gruppe I**:  $p=0,15$

Die  $\gamma$ -GT Werte zeigten in den **Gruppen I und II** einen eingipfligen Verlauf mit einem Maximum nach 24 h. Bei der **Gruppe I** steigt der Wert von  $0,65 \pm 0,56$  U/L 1 h postoperativ auf  $2,08 \pm 1,92$  U/L nach 24 h. Im Anschluß sinkt der Wert leicht auf  $1,95 \pm 1,55$  U/L nach 48 h. Bei der **Gruppe II** kommt es nach 24 h zu einem starken Anstieg von  $1,64 \pm 0,53$  U/L 1 h postoperativ auf  $3,81 \pm 2,94$  U/L im 24 h-Wert. Auch hier kommt es zu einem Absinken der Aktivität nach 48 h auf  $2,64 \pm 1,36$  U/L. In der **Gruppe III** kam es nach 24 h zu keinem Anstieg im Vergleich zu 1 h postoperativ. Der 1 h-Wert betrug  $1,13 \pm 1,0$  U/L, 24 h nach der Transplantation  $1,13 \pm 0,9$  U/L. Aber im weiteren Verlauf kam es zu einem starken Anstieg nach 48 h auf eine Enzymaktivität von  $4,21 \pm 2,5$  U/L.

### 5.1.5 AP-Verlauf

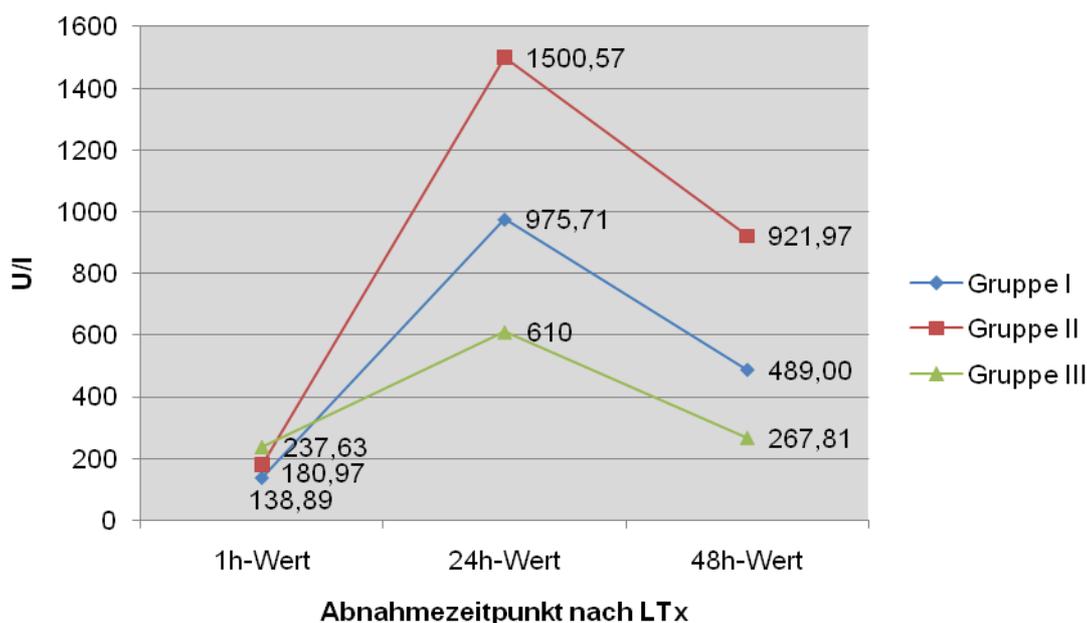


**Abbildung 21: AP Aktivität im Serum**

Signifikanzen nach 48 h: zwischen **Gruppe I** und **Gruppe II**:  $p=0,037$ ; zwischen **Gruppe II** und **Gruppe III**:  $p=0,027$

Die AP zeigte annähernd gleiche Werte ohne signifikante Unterschiede in allen Gruppen 1 h nach der Transplantation. Der niedrigste Wert von  $113,29 \pm 9,90$  U/L wurde bei der **Gruppe III** gemessen. In der **Gruppe I** war der Wert  $120,29 \pm 12,90$  U/L und in der **Gruppe II**  $126,29 \pm 9,90$  U/L. Nach 24 h blieb der Wert der **Gruppe III** mit  $111,43 \pm 13,18$  U/L fast identisch, wohingegen die Werte der **Gruppen II** und **I** deutlich fielen und einen Wert von  $94,86 \pm 9,07$  U/L (**Gruppe II**) und einen Wert von  $88,0 \pm 19,65$  U/L (**Gruppe I**) erreichten. Im weiteren Verlauf, nach 48h zeigten alle Gruppen einen Anstieg der Enzymaktivität. Ein starker Anstieg auf einen Wert von  $145,14 \pm 12,03$  U/L wurde in der **Gruppe III** gemessen sowie ein Anstieg auf einen Wert von  $142,86 \pm 13,69$  U/L in der **Gruppe I**. Den geringsten Anstieg bei dem 48h-Wert wurde bei der **Gruppe II** mit  $108,75 \pm 16,52$  U/L gemessen. Ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) war zwischen den **Gruppen I und II**, sowie zwischen den **Gruppen II und III** 48 h nach der Transplantation zu messen. Die Werte der **Gruppe I und III** lagen nach 48 h um den Faktor 1,3 über denen der **Gruppe II**.

### 5.1.6 GLDH-Verlauf



**Abbildung 22: GLDH Aktivität im Serum**

Signifikanzen nach 24 h: zwischen **Gruppe II** und **Gruppe III**:  $p=0,002$

Signifikanzen nach 48 h: zwischen **Gruppe I** und **Gruppe II**:  $p=0,009$ ; zwischen **Gruppe II** und **Gruppe III**:  $p<0,001$

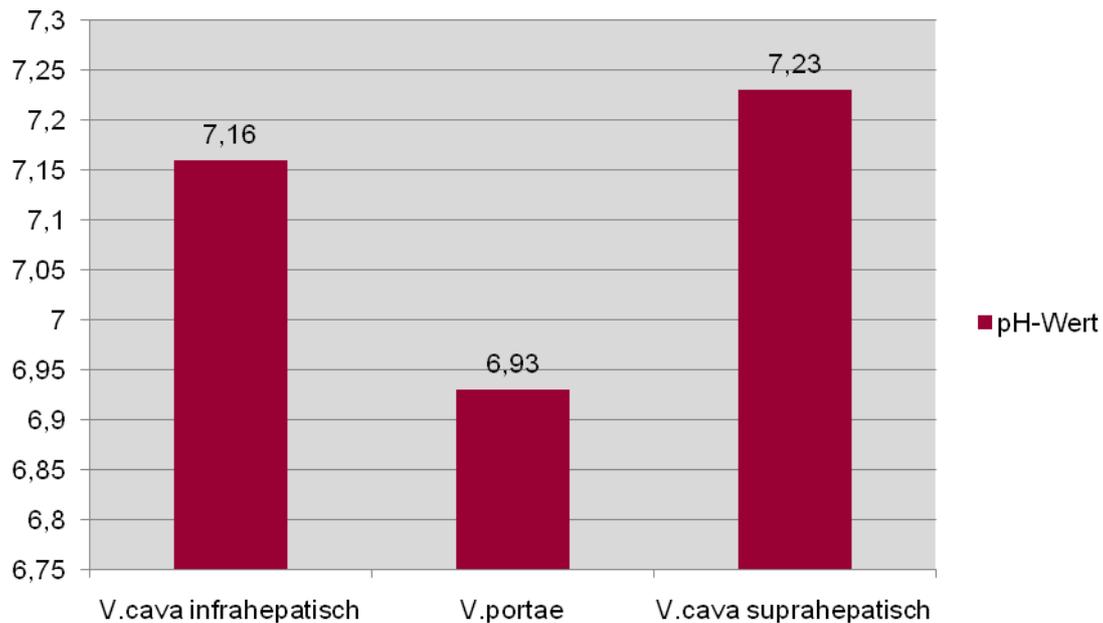
Bei allen drei Gruppen kam es zu einem deutlichen Anstieg vom 1 h-Wert zum 24 h-Wert. So wurde bei der **Gruppe I** ein Wert 1 h postoperativ von  $138,89\pm 52,55$  U/L gemessen und ein Anstieg bei dem 24 h-Wert auf  $975,71\pm 426,84$  U/L. Im weiteren Verlauf sank der Wert dieser Gruppe nach 48 h auf  $489,0\pm 145,96$  U/L. Bei der **Gruppe II** wurde 1 h postoperativ eine Aktivität von  $180,97\pm 63,51$  U/L und im Anschluß daran der stärkste Anstieg der Gruppen bei dieser Untersuchung auf einen 24 h-Wert von  $1500,57\pm 323,75$  U/L gemessen. Nach 48 h kam es auch hier zu einem Rückgang des Wertes auf  $921,97\pm 178,19$  U/L. Die **Gruppe III** zeigte ebenfalls einen eingipfligen Kurvenverlauf, mit einem 1 h-Wert von  $237,63\pm 103,84$  U/L, einem 24h-Wert von  $610,0\pm 211,47$  U/L sowie ein Absinken des 48 h Wertes auf  $267,81\pm 66,51$  U/L was den stärksten Abfall bei diesem Parameter darstellte.

Signifikante ( $p<0,05$ ) Unterschiede waren zwischen der **Gruppe III** und der **Gruppe II** nach 24 h. Nach 48 h waren die Aktivitäten der **Gruppen I**

und III niedriger als die der **Gruppe II**. Nach 24 h lagen die Werte der **Gruppe II** um den Faktor 2,45 und die Werte der **Gruppe I** um den Faktor 1,6 über den Werten der **Gruppe III**. Nach 48 h vergrößerte sich der Faktor in der **Gruppe II** auf 3,4 und in der **Gruppe I** auf 1,8.

## 5.2 Blutgasanalyse

### 5.2.1 pH-Werte bei Reperfusion



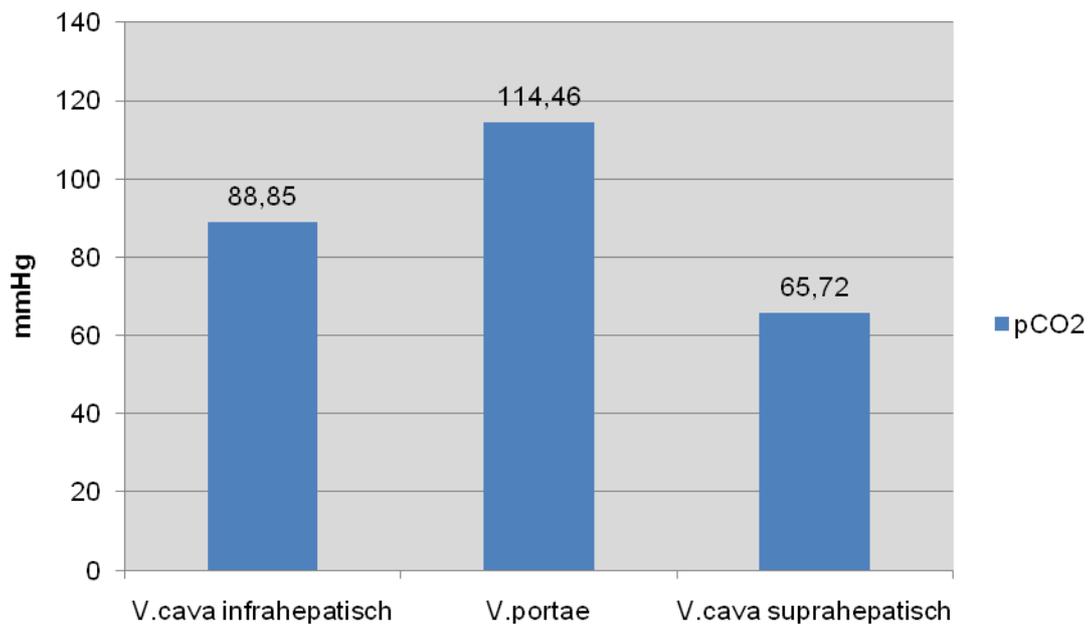
**Abbildung 23: pH-Wert in den Reperfusionsgefäßen**

Signifikante Unterschiede zwischen der **VCI** und **PV**:  $p=0,031$ ; **PV** und **VCS**:  $p=0,031$ .

Der pH-Wert variiert erheblich in den einzelnen Gefäßabschnitten. So liegt in der Pfortader vor der Reperfusion der Transplantatleber ein extrem saurer pH-Wert von  $6,93\pm 0,03$  vor. In der *infrahepatischen Vena cava* liegt auch ein saures Blut mit einem Wert  $7,16\pm 0,10$  vor. In der *suprahepatischen Vena cava* wurde ein Wert von  $7,22\pm 0,09$  gemessen.

Signifikante Unterschiede wurden zwischen der Pfortader und den beiden Vv.cavae gemessen. Zwischen der **VCI** und **VCS** konnte kein signifikanter Unterschied gemessen werden.

## 5.2.2 pCO<sub>2</sub> bei Reperfusion

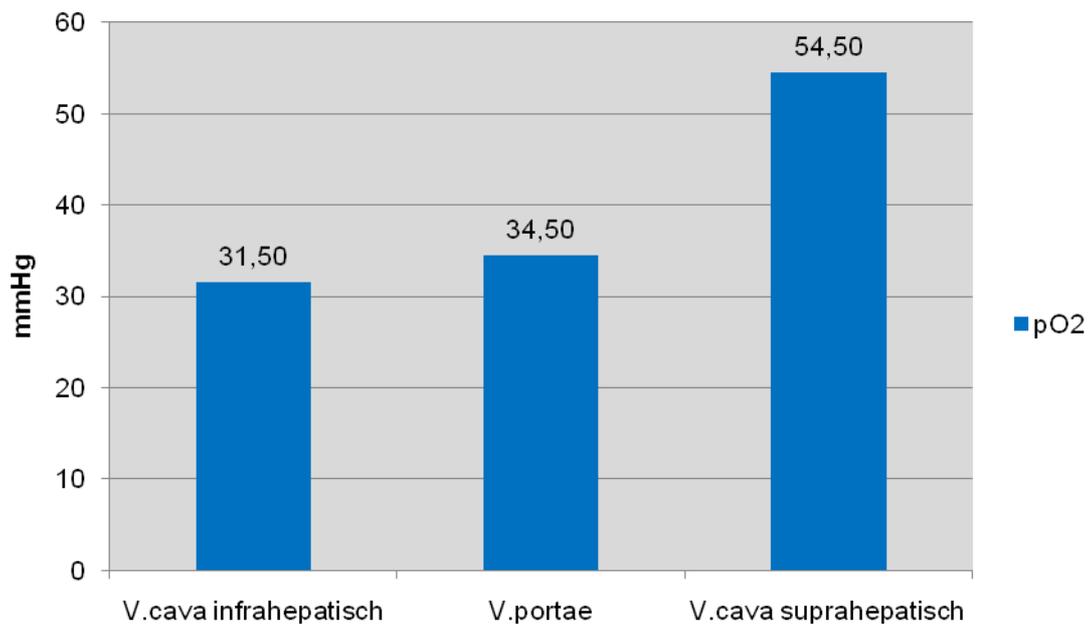


**Abbildung 24: pCO<sub>2</sub> in den Reperfusionsgefäßen**

Signifikante Unterschiede zwischen **VCI** und **PV**:  $p=0,01$ ; **PV** und **VCS**:  $p=0,001$ ;  
**VCI** und **VCS**:  $p=0,01$

Der Partialdruck des CO<sub>2</sub> erreichte den höchsten Wert in der Pfortader mit  $114,46 \pm 11,93$  mmHg. Gefolgt von der *infrahepatischen Vena cava* mit  $88,85 \pm 8,86$  mmHg und von der *suprahepatischen Vena cava* mit  $65,86 \pm 4,72$  mmHg.

### 5.2.3 pO<sub>2</sub> bei Reperfusion

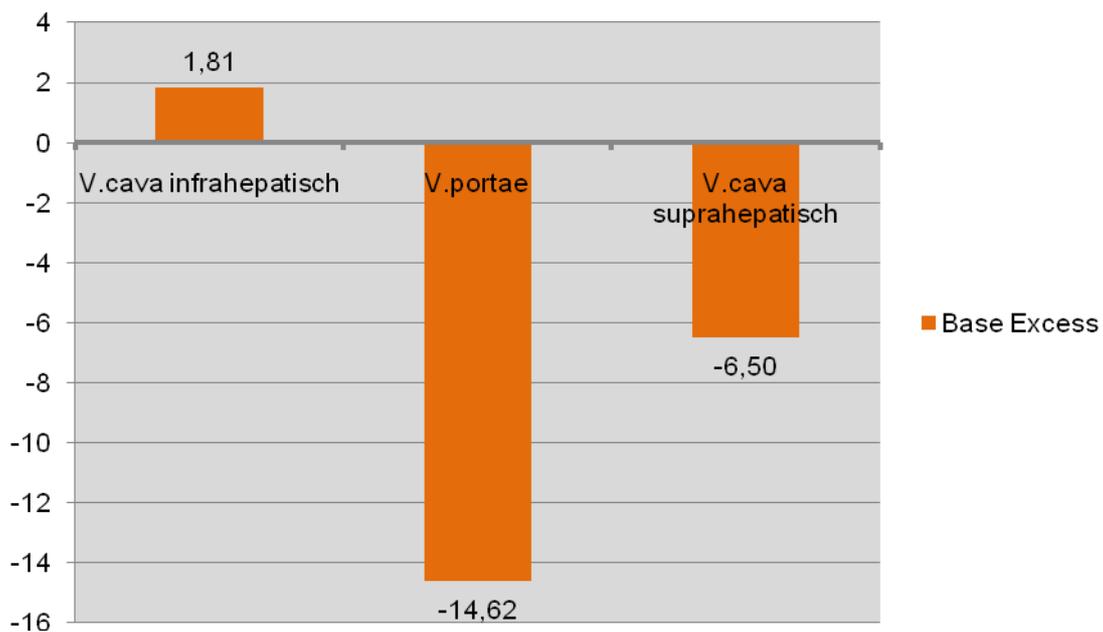


**Abbildung 25: pO<sub>2</sub> in den Reperfusionsgefäßen**

Signifikante Unterschiede zwischen **PV** und **VCS**:  $p=0,002$ ; **VCI** und **VCS**:  $p=0,001$ . Zwischen der **PV** und der **VCI** konnte keine Signifikanz festgestellt werden.

Es wird ein O<sub>2</sub>-Partialdruck in der *infrahepatischen Vena cava* von  $31,5\pm 6,13$  mmHg sowie in der Pfortader von  $34,5\pm 9,74$  mmHg erreicht. In der *suprahepatischen Vena cava* wurde ein Wert von  $54,5\pm 9,08$  mmHg gemessen.

## 5.2.4 Base Excess bei Reperfusion

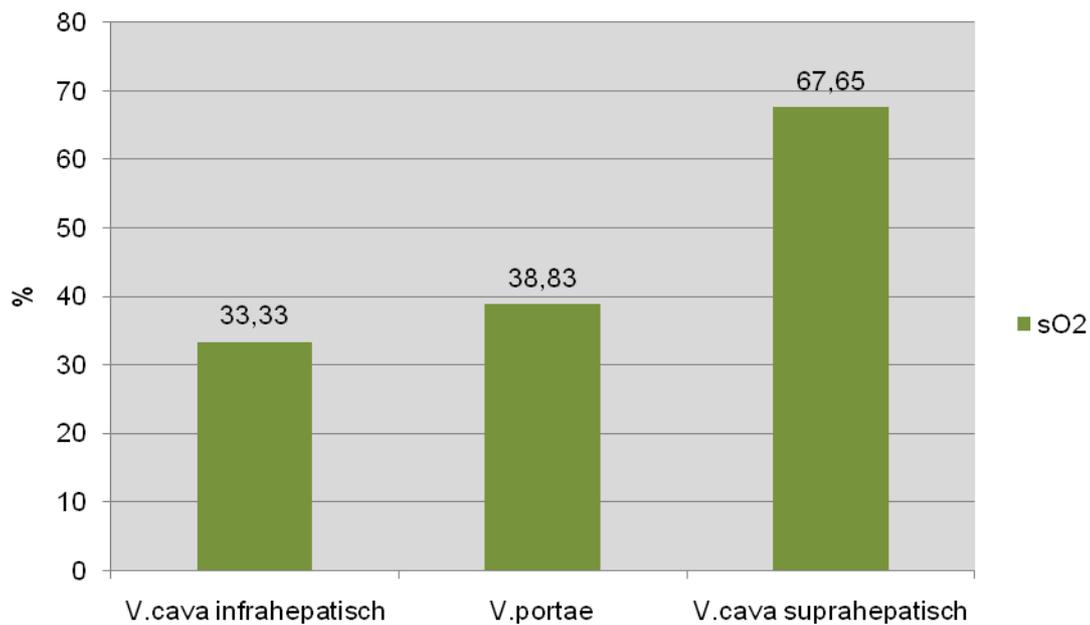


**Abbildung 26: BE in den Reperfusionsgefäßen**

Signifikante Unterschiede wurden hier zwischen allen Gefäßabschnitten gefunden. Signifikanz zwischen **VCI** und **PV**:  $p=0,03$ ; Signifikanz zwischen **VCI** und **VCS**:  $p=0,03$  und Signifikanz zwischen **PV** und **VCS**:  $p=0,03$ .

Der BE zeigte ebenso deutliche Unterschiede in den einzelnen Gefäßabschnitten. So betrug der BE in der Pfortader  $-14,61 \pm 2,12$  und in der *suprahepatischen Vena cava*  $-6,5 \pm 0,83$ . In der *infrahepatischen Vena cava* lag der BE Wert bei  $+1,8 \pm 0,18$ .

## 5.2.5 Sauerstoffsättigung bei Reperfusion



**Abbildung 27: Sauerstoffsättigung in den Reperfusionsgefäßen**

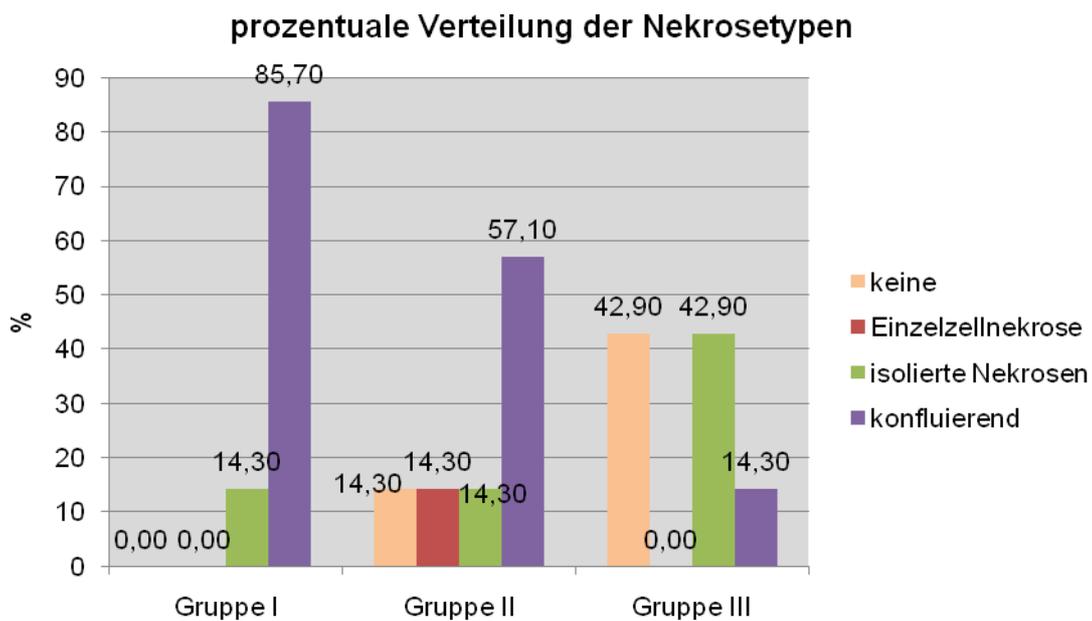
Signifikante Unterschiede zwischen **PV** und **VCS**:  $p=0,001$ ; **VCI** und **VCS**:  $p=0,001$ . Zwischen der **PV** und der **VCI** konnte auch hier keine Signifikanz festgestellt werden.

Im Bereich der *infrahepatischen Vena cava* wurden Werte von  $33,33 \pm 4,74$  % und im Bereich der Pfortader Werte von  $38,83 \pm 6,03$  % erreicht. In der *suprahepatischen Vena cava* lag noch eine Sauerstoffsättigung von  $67,65 \pm 5,04$  % vor.

## 5.3 Histologie

Bei der Auswertung der histologischen Proben der Transplantatlebern konnte gezeigt werden, dass es deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen gibt. Es wurden die Nekrosen nach ihrer Art eingeteilt und bewertet, in welchem prozentualen Anteil sie in den einzelnen Gruppen vorlagen.

### 5.3.1 Nekroseart und Verteilung



**Abbildung 28: Lebernekrosetypen**

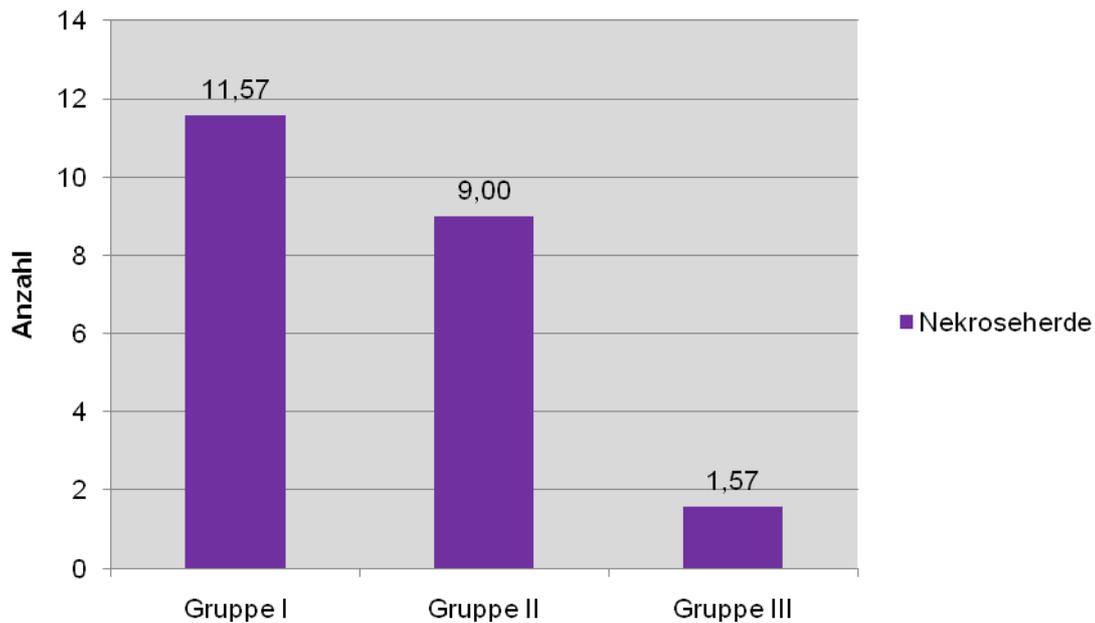
Es konnte hier gezeigt werden dass es einen signifikanten Unterschied zwischen der **Gruppe I** und **Gruppe III** gibt wenn man die Verteilung und die Ausdehnung der Nekrosen vergleicht. Der hierfür ermittelte p- Wert beträgt  $p=0,029$ . Zwischen den anderen Gruppen konnte keine Signifikanz festgestellt werden. In der **Gruppe I** sind die gefundenen Nekrosen 85 % vom konfluierenden Typ, wohingegen keine Probe gefunden wurde die keine Nekrose aufwies. In der **Gruppe III** waren immerhin bei 42,9 % der Proben histologisch keine Nekrosen nachweisbar. Und nur 14,3 % der Proben zeigten konfluierende Nekrosen.

Desweiteren wurden die Gewebeproben auf mögliche perivaskuläre Ödeme untersucht. Die Auszählung hier ergab ein Vorkommen von Ödemen bei 3

Tieren in der **Gruppe I**, Ödeme bei 2 Tieren in der **Gruppe II** und keine perivaskulären Ödeme in der **Gruppe III**. Auf Grund der geringen Fallzahl in dieser Studie konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden.

### 5.3.2 Anzahl der Nekroseherde

Es wurde die Anzahl der Nekroseherde pro Gesichtsfeld bestimmt.



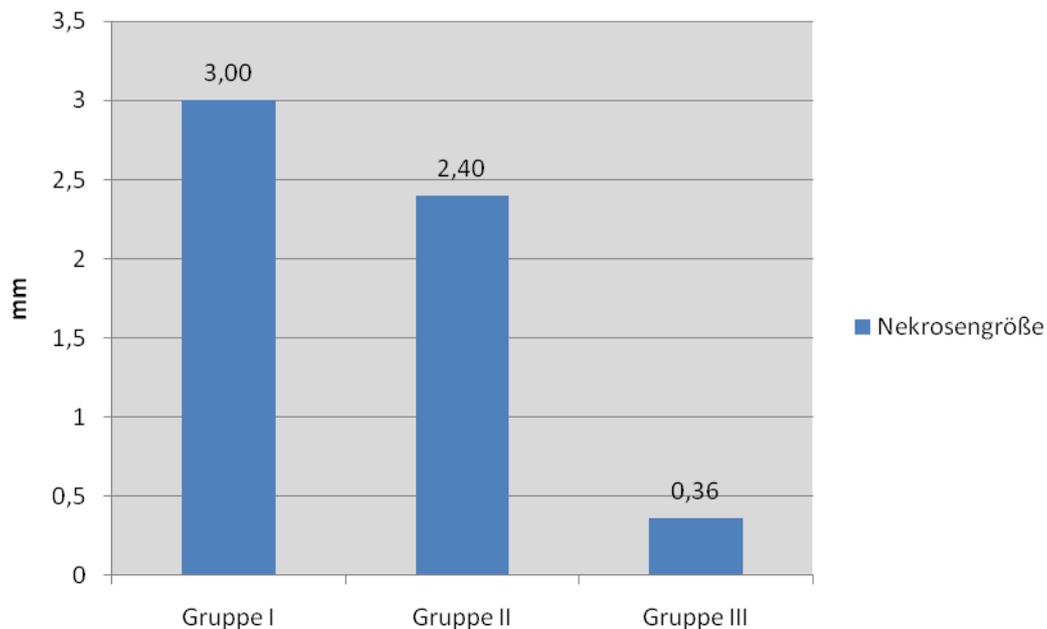
**Abbildung 29: Anzahl der Nekroseherde**

Im Durchschnitt lagen in der **Gruppe I**  $11,57 \pm 4,97$ , in der **Gruppe II**  $9,0 \pm 2,8$  Nekroseherde pro Gesichtsfeld vor. In der **Gruppe III** sind es  $1,57 \pm 1,1$ . Signifikanzen ergeben sich dadurch zwischen der **Gruppe I** und der **Gruppe III** ( $p=0,007$ ), sowie zwischen der **Gruppe II** und der **Gruppe III** ( $p=0,026$ )

Bei der histologischen Bewertung der Gewebeproben wurde die Größenausdehnung der Nekroseherde bestimmt und ausgewertet. Bei der minimalen Größenausdehnung konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Bei der **Gruppe I** lag der durchschnittliche minimale Wert der Nekrosegröße bei  $0,19 \pm 0,12$  mm, bei der **Gruppe II**  $0,11 \pm 0,05$  mm und bei der **Gruppe III** lag der Wert bei  $0,03 \pm 0,02$  mm.

Als wichtiger Bestandteil der histologischen Beurteilung der Gewebeproben wurde die durchschnittliche Maximalgröße der Nekroseherde bestimmt. Die **Gruppe III** hatte hier die niedrigsten Werte.

### 5.3.3 Maximale Größe der Nekroseherde



**Abbildung 30: Größe der Nekroseherde**

Im Durchschnitt waren die Nekroseherde in der **Gruppe I**  $3\pm 0,65$  mm, bei der **Gruppe II**  $2,4\pm 1,55$  mm und bei der **Gruppe III**  $0,36\pm 0,31$  mm. Ein signifikanter Unterschied wurde zwischen der **Gruppe I** und **Gruppe III** ( $p=0,001$ ) gefunden.

### 5.3.4 Zonenaufteilung der Nekroseherde

Bei der histologischen Auswertung der Gewebeproben wurde die Verteilung der Nekrosen bezogen auf die Zoneneinteilung nach Rappaport eines Leberazinus ermittelt.

Versuchstier Nummer	Gruppe I Zonen	Gruppe II Zonen	Gruppe III Zonen
1	1,2,3	3	3
2	1,2,3	2,3	3
3	1,2,3	1,2,3	Keine Nekrosen
4	1,2,3	1,2,3	Keine Nekrosen
5	2,3	1,2,3	2,3
6	1,2,3	2,3	Keine Nekrosen
7	2,3	Keine Nekrosen	3

Tabelle 1: Vorkommen von Nekrosen in den einzelnen Zonen der Leberazinus

Es zeigt sich hier für die Zone 1 eine Nekrosehäufigkeit für die **Gruppe I** von 71,4 %, für die **Gruppe II** 42,9 % und für die **Gruppe III** von 0 %. Ein signifikanter Unterschied ergibt sich zwischen den **Gruppen I und III** ( $p=0,021$ ).

Für die Zone 2 ergab sich eine Nekrosehäufigkeit von 100 % in der **Gruppe I**, 71,4 % in der **Gruppe II** und 14,3 % in der **Gruppe III**. Signifikant hierbei war der Unterschied zwischen der **Gruppe I und Gruppe III** ( $p=0,005$ )

Die größte Häufigkeit eines Nekrosevorkommens war in allen 3 Gruppen in der Zone 3. In der **Gruppe I** betrug die Häufigkeit einer Nekrose 100 %. In der **Gruppe II** lag die Häufigkeit bei 85,7 % und in der **Gruppe III** war die Häufigkeit noch bei 57,1 % für die Zone 3. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen waren hier nicht fest zu stellen.

Es ist zu sehen, dass die transplantierten Lebern mit der retrograden Reperfusion (Gruppe III) weniger und in ihrer maximalen Größe kleinere Nekrosefelder aufweisen als die Lebern der Gruppe I und II.

## 6 Diskussion

### 6.1 Ziele der Forschung

Ein wichtiges Ziel der Forschung besteht darin die Ergebnisse der Lebertransplantation zu optimieren. Durch das Lernen und Verstehen der Vorgänge bei der Organübertragung muß versucht werden, dass das Outcome und das Langzeitüberleben verbessert wird. Es muß definiert werden, unter welchen Voraussetzungen was für eine operative Technik die beste für die Lebertransplantation ist. Dabei müssen die Gegebenheiten des Spenderorgans, wie z.B. die Gefäßversorgung, sowie die Gegebenheiten des Empfängers, ist es eine Re-transplantation oder nicht, berücksichtigt werden. Ebenso muß der gesamte Ablauf der Organspende und der Transplantation berücksichtigt werden, da die Ischämiezeit der Leber und die verwendete Perfusionslösung ebenfalls einen Einfluß auf den I/R haben. So muß durch weitere Studien geklärt werden, ob der Vorteil, den wir in unserer Studie durch die retrograde Reperfusion gemessen haben, auch bei längeren Kalt-Ischämiezeiten der explantierten Leber, wie sie bei einer klinischen Lebertransplantation vorkommen, bestätigt werden kann. Desweiteren muß geklärt werden ob die Vorteile durch unserer OP-bzw. Reperfusionsmethode auch bei klinisch verwendeten Perfusionslösungen gemessen werden können und signifikant bessere Ergebnisse erzielt werden. Wie oben erwähnt haben verschiedene Perfusionslösungen unterschiedliche Auswirkungen bzw. Schutzfunktionen für entnommene Lebern. So stellt sich die Frage, ob die retrograde Reperfusion für alle klinisch relevanten Perfusionslösungen einen Vorteil bringt oder ob es hier signifikante Unterschiede zwischen den Lösungen bei Anwendung der retrograden Reperfusion gibt. Darüber hinaus ist zu eruiren ob unsere Reperfusionsmethode die Ergebnisse der Lebertransplantation so verbessert, dass auch die Verwendung marginaler Organe mit guten Ergebnissen möglich ist. Durch das Organspenderkollektiv bedingt, werden oft marginale Organe angeboten. Diese Organe zu transplantieren ist wichtig um den vorhandenen Spendermangel bzw. Organmangel entgegen zu wirken. Dadurch wäre es möglich die Zahl derer, die auf der Warteliste versterben zu reduzieren.

## 6.2 Vorteile und Nachteile der Ratte als Versuchstier

### Die Vorteile:

- Syngene Untersuchung möglich

Durch Tierexperimente an gezüchteten Stämmen, hat man die Möglichkeit Phänomene zu untersuchen die einem sonst nicht zugänglich sind. Hier in unserer Studie wurden die Transplantationen an genetisch identischen Tieren durchgeführt. So konnten wir Phänomene der Abstoßungsreaktion oder Arzneimittelinteraktionen der Immunsuppression ausschließen und die beobachteten Ergebnisse alleine auf die Operationstechnik und Reperforationsrichtung zurück führen.

- Standardisierte Untersuchungen

Der Vorteil der Rattenoperation liegt darin, dass die Vorgehensweise sowie der logistische und zeitliche Ablauf standardisiert werden können und alle Faktoren, die die Organfunktion beeinflussen, konstant gehalten werden können. So war der Unterschied der einzelnen Gruppen nur die Reperforationsrichtung nach Fertigstellung der Gefäßanastomosen bei der Transplantation.

- Einfache Tierhaltung

Ein weiterer Vorteil, die Ratte als Versuchstier zu nehmen liegt darin, dass sie relativ günstig ist, im Vergleich zu Großtieren wie Schweinen. Ihre Unterbringung im Labor stellt keine größeren Schwierigkeiten dar.

Es gibt aber auch Kritikpunkte die Ratte als Versuchstier zu verwenden.

### Die Nachteile:

- Schwierige mikrochirurgische Operationstechnik

Es ist auf Grund der Größe der Tiere und ihrer Anatomie schwierig, eine Lebertransplantation durchzuführen. Als Operateur braucht man viel Zeit und Übung, bis man eine Lebertransplantation studienreif und standardisiert durchführen kann.

- Übertragung auf den Menschen nicht 100 % möglich

Die Möglichkeit, genau definierte Fragestellungen an der Ratte zu untersuchen hat aber auch den Nachteil, dass die Ergebnisse nicht 1 zu 1 auf die klinische Lebertransplantation übertragbar sind und so nur Tendenzen angegeben werden können. Um konkrete Aussagen über Ergebnisse bei einer am Menschen durchgeführten Lebertransplantation machen zu können sind Studien bei klinischen Lebertransplantationen nötig. Die Ergebnisse einer Lebertransplantation sind von vielen Faktoren abhängig, die in einem Tierexperiment nicht berücksichtigt werden. So spielt die Grunderkrankung des Empfängers eine Rolle, sein klinischer Zustand zum Zeitpunkt der Lebertransplantation, sein Alter, die Qualität des verwendeten Organs und natürlich auch, dass die menschliche Leber andere Reaktionen zeigt als die einer Ratte (183). So produzieren isolierte menschliche Hepatozyten weniger Sauerstoffradikale und Lipoperoxide nach einer 2,5 h dauernden Anoxie mit anschließender Reoxigenierung als isolierte Rattenhepatozyten. Menschliche Hepatozyten sind resistenter gegen Zellschädigung während Anoxie und Reoxigenierung als Rattenhepatozyten (26). Dieser Sachverhalt muß berücksichtigt werden, will man Ergebnisse von Tierstudien auf klinische Lebertransplantationen übertragen. Ein weiterer Grund, der in dieser Studie nicht berücksichtigt wurde, sind die Arzneimittelinteraktionen die bei einer klinischen Lebertransplantation auftreten sowie die Auswirkungen der verwendeten Immunsuppressiva, die immer gegeben werden müssen. Zum einen sind unsere Ergebnisse, da ohne Medikamentenwechselwirkung, nicht vergleichbar mit klinischen Lebertransplantationen, aber das ist hier auch gleichzeitig ein Vorteil, weil der Einfluß der Medikamente u eine mögliche Organabstoßung eliminiert wurden und so isoliert nur die OP-Technik mit den Möglichkeiten der Organreperfusion untersucht werden konnte.

Im Tierexperiment wurden verschiedene Ansätze, wie Geninduktion oder spezielle Vorbehandlung der Spender verfolgt um das Ergebnis einer Transplantation zu verbessern. Diese Methoden sind sehr wichtig für das Verständnis der Organübertragung. Aber diese experimentellen Ansätze, die zwar im Tierexperiment erfolgreich belegt werden konnten, sind auf humane klinische Lebertransplantationen nur schwer anzuwenden. So müssen

Strategien entwickelt werden die vom Ablauf einer humanen Lebertransplantation realisierbar sind und auch für den Empfänger sowie für das Spenderorgan kein zusätzliches Risiko darstellen. Daher sollte die Transplantationstechnik verwendet werden welche den geringsten Schaden verursacht. Diesbezüglich stellt die Transplantationstechnik mit den verschiedenen Variationen der Reperfusion eine gute Möglichkeit dar, die Organfunktion nach Transplantation zu verbessern

### **6.3 Plausibilität der Ergebnisse**

Trotz der Entwicklungen in der Transplantationsmedizin seit *Starzl* ist es immer noch nicht möglich alle relevanten Komplikationen einer Lebertransplantation wie *INF* oder *IPF*, Abstoßungsreaktionen, chirurgische Komplikationen oder Probleme mit den gespendeten Organen völlig zu kontrollieren. Für eine weitere Verbesserung der Ergebnisse nach einer Lebertransplantation müssen die Mechanismen der Schädigungen sowie die Zusammenhänge der Organqualität und das Outcome der Operation weiter untersucht, erforscht und noch besser verstanden werden. Nur wenn die Pathomechanismen verstanden werden, ist es möglich Lösungsansätze zu entwickeln um die Ergebnisse der Lebertransplantation zu verbessern.

Der I/R ist von verschiedenen Faktoren, wie oben beschrieben, abhängig. Einige Parameter können für eine individuelle Transplantation nicht beeinflusst werden. So hat der Transplantationschirurg keinen Einfluß mehr auf die Organqualität der Spenderleber, die kalte Ischämiezeit (sie ist auf Grund der Organisation und des Transportes der Leber vorgegeben) sowie die verwendete Perfusionslösung. Der Chirurg hat aber durch die angewandte Operationstechnik und Methode die Möglichkeit, das Transplantationsergebnis zu optimieren. So sollte die Leber so transplantiert werden, dass bei der Leber der geringste Schaden induziert wird und das Outcome am besten ist.

Durch unsere durchgeführte Studie konnte gezeigt werden, dass die Beendigung der Ischämieperiode der Transplantatleber durch eine initiale retrograde Reperfusion über die *suprahepatische Vena cava inferior* einen organprotektiven Effekt hat und dass das Organ innerhalb der Beobachtungsperiode von 48 h weniger Schaden nimmt. In dieser

Arbeit wurde an einer tierexperimentellen Studie versucht diesen Umstand zu erklären. Es wurde zwischen syngenen Ratten eine Lebertransplantation mit verschiedenen Reperfusionsmethoden durchgeführt sowie die Parameter des Blutes aus den verschiedenen Anastomosenbereichen bestimmt, welches die Ischämie in der jeweiligen Gruppe des Organs beendet.

Die retrograde Reperfusion führte zu einer schnelleren Erholung der Ratten nach der Transplantation, einen geringeren Anstieg der Transaminasen GOT und GPT sowie der GLDH, und zu einer besseren Leberfunktion. Es zeigte sich auch, dass die strukturelle Leberschädigung durch Nekrose der transplantierten Lebern mit retrograder Reperfusion signifikant geringer war als bei den anderen Reperfusionsmethoden.

Die Leberenzyme GPT und GOT, Enzyme die für den Aminosäurestoffwechsel in der Leber verantwortlich sind, zeigten einen signifikanten Unterschied bezüglich der Leberzellschädigung auf. Die Gruppe III hatte eine signifikant niedrigere Schädigung als die beiden anderen Gruppen. Das Enzym GOT was sich vorwiegend in den Mitochondrien der Leberzellen befindet spiegelt einen größeren Schaden in diesem Bereich wider, da hier auch diese Zellorganellen mitbetroffen sind. Durch die Zerstörung der Kraftwerke der Zellen, die Mitochondrien, fehlt auch die Energiebereitstellung für eine mögliche Regeneration und für die Beseitigung der Stoffwechselmetabolite die im Rahmen einer Transplantation entstehen.

Ein möglicher Grund für dieses Phänomen ist, dass bei der retrograden Reperfusion ein wesentlich weniger „saureres“ Blut die Ischämie beendet. So wird bei der retrograden Reperfusion die Ischämie mit Blut mit einem pH-Wert von 7,2 beendet wohingegen bei der initialen portalen bzw. simultanen Reperfusion das Blut einen pH-Wert von 6,93 aufweist. Durch dieses saure Blut wird das Lebergewebe stärker geschädigt (197). Ein weiterer Grund für ein besseres Ergebnis durch die retrograde Reperfusion ist, dass das Blut einen höheren Sauerstoffpartialdruck aufweist und dadurch mehr Sauerstoff in die Leber gelangt. Der Wert in der suprahepatischen Vena cava liegt mit 54,5 mmHg annähernd doppelt so hoch wie in den beiden anderen Gefäßen. Der Sauerstoff ist für die Energiegewinnung und den Stoffwechsel nötig um die

Schadstoffe, die durch die Ischämie und die Operation entstehen, zu eliminieren. Bei der antegraden Reperfusion fehlt der nötige Sauerstoff, der Sauerstoffpartialdruck liegt hier zwischen 31,5 mmHg in der infrahepatischen Vena cava und 34,5 mmHg in der Pfortader. So können die schädigenden Einflüsse nicht so gut kompensiert werden. Durch das saure Blut wird die Schädigung noch verstärkt.

Es wurde gezeigt, dass bei der antegraden Reperfusion signifikant mehr Nekrosen um den Zentralvenen-Bereich in der Leber auftreten, als bei der retrograden Reperfusion. Das ist ein Zeichen für eine stärkere Schädigung in diesem Bereich. Durch eine Hypoxie und anschließende Reoxigenierung kommt es zu einer Aktivierung von Apoptosekaskaden in den Hepatozyten, was bei der antegraden Reperfusion starker ausgeprägter ist, da hier ein größerer Sauerstoffmangel vorliegt (25). Dabei scheint es keine Rolle zu spielen, daß bei der retrograden Gruppe nach Fertigstellung aller Anastomosen ebenfalls das saure Blut aus dem Darmbereich durch die Leber fließt. Wichtig scheint zu sein, welche Qualität und Zusammensetzung das Blut hat was die Kaltischämie beendet.

Die Werte der  $\gamma$ -GT und Billirubin zeigen den Status der Gallenepithelzellen und deren Schaden, sowie deren Funktion in Bezug auf die sekretorische Leistung der Leber an. Intraoperativ konnten wir subjektiv beobachten, dass die Galleproduktion in der Gruppe III früher und stärker einsetzte als in den anderen beiden Gruppen. Die ermittelten Werte lassen aber darauf schließen, dass die Gruppe der retrograden Reperfusion in Bezug auf das Gallensystem keinen großen Vorteil darstellt. In einer klinischen Studie konnte gezeigt werden, dass bei der retrograden Reperfusion signifikant mehr Gallekomplikationen in Form einer *ITBL* auftraten als bei der simultanen antegraden Reperfusion (73). Ein möglicher Grund dafür kann sein, dass die Versorgung der Gallengangsepithelzellen hauptsächlich durch die Leberarterie erfolgt was bei der retrograden Reperfusion am spätesten erfolgt und so die Zellen später mit Nährstoffen und Sauerstoff versorgt werden.

Bei der retrograden Reperfusion dauert es bis zum Ende der Ischämie durch retrograde Blutfüllung der Leber ca. 20 min (Naht der *Vena cava inferior*

*suprahepatisch und infrahepatisch*). Danach dauert es noch mal ca. 8 min bis die Pfortader und die Leberarterie anastomosiert werden; erst dann kommt arterielles Blut zu den Galleendothelzellen. Bei der simultanen Reperfusion dauert die Ischämie auch 20 min (Naht der *suprahepatischen Vena cava inferior* + Pfortaderanastomose + 30s später die arterielle Verbindung) aber nach diesen 20- 21 min ist der arterielle Fluss ebenso wieder freigegeben.

Der 24 h-Wert der AP spricht ebenfalls für diese Theorie. Bei den Gruppen I und III stieg der Wert der AP deutlich an im Vergleich zur Gruppe der simultanen Reperfusion (Gruppe II). Bei der Gruppe II bekommen die Galleepithelzellen sofort bei der Reperfusion arterielles Blut. Bei der Gruppe I erfolgt erst der portale Blutfluß und dabei kann es zu einer Schwellung im Organ kommen. Eine verzögerte arterielle Durchblutung kann dann nicht mehr optimal die Gallenwege wegen des erhöhten Drucks in der Leber versorgen und so steigen die Werte der AP auch bei der initialen portalen Perfusion deutlich an. Das deutet darauf hin dass die Galleepithelzellen viel Sauerstoff benötigen, den sie bei der simultanen Reperfusion am ehesten bekommen. Dadurch fällt die Schädigung in diesem Bereich am geringsten aus. Diese These wird untermauert, dass eine hyperbare Sauerstoffbehandlung einen positiven Effekt auf die Leberdysfunktion nach einen I/R der Leber hat (100).

In unserer Studie zeigte eine initiale portale Reperfusion keine Vorteile gegenüber einer simultanen Reperfusion. Auch wenn es bei der simultanen Reperfusion länger dauert bis die Ischämie beendet wird, da vor der Reperfusion 3 Anastomosen genäht werden müssen und das Organ sich im Situs langsam, ohne mit Blut versorgt zu werden, erwärmt, führt die gleichzeitige Durchblutung der Pfortader und Leberarterie zu einer insgesamt besseren Versorgung der Leber mit Sauerstoff. Bei der erst portalen Reperfusion entsteht durch den Einstrom des gestauten Blutes aus dem Darmbereich ein Druck in der Leber und auf das intrahepatische arterielle Gefäßsystem und es kommt so zu einer Druckschädigung der Zellen so wie zu einer arteriellen Minderdurchblutung bei Freigabe der Arterie (125,127).

Die AP zeigt einen U-förmigen Verlauf. Die Werte fallen von 1 h postoperativ zum 24 h-Wert, wobei die Gruppe III das höchste Niveau hat. In allen 3

Gruppen zeigt sich ein Anstieg nach 24 h. Man kann darauf schließen, dass die volle Ausprägung des Schadens noch nicht erreicht wurde. Eventuell werden Entzündungskaskaden induziert die eine Schädigung erst mit einer gewissen Verzögerung entstehen lassen. Für eine genauere und endgültige Beurteilung muß eine Versuchsreihe mit längerem Beobachtungsintervall durchgeführt werden, damit das Maximum der Schädigung voll erfasst werden kann.

Die GLDH ist, wie die GOT, überwiegend in den Mitochondrien der Leber lokalisiert. Ihre Aufgabe besteht in der Bildung und Bindung von Ammoniak. Die höchsten Konzentrationen finden sich in den zentroazinären Zellen, bei deren Untergang folglich die höchsten Enzymaktivitäten auftreten. Der Wert der GLDH steigt vom 1 h-Wert zum 24 h-Wert an um dann zum 48 h-Wert wieder abzufallen. Man kann postulieren dass hier das Maximum erreicht wurde. Die Gruppe mit der retrograden Reperfusion hat das niedrigste Niveau und erreicht nach 48 h fast das Ausgangsniveau. Auch hierbei zeigt sich, dass bei der retrograden Reperfusion die Ausprägung des Schadens auf Zellebene am geringsten ist. Die Leber kann hier am ehestens nach der Lebertransplantation ihre Entgiftungs- und Stoffwechselfunktion wieder vollständig aufnehmen.

Eine metabolische Azidose, wie sie während der anhepatischen Phase und der Ischämieperiode der Spenderleber vorkommt, hat Auswirkungen auf den Stoffwechsel des Organs und des Organismus. So kommt es zur Abnahme von Enzymaktivitäten, zur Beeinträchtigung des Stoffwechsels und der Regeneration der Energiebereitstellung. Desweiteren kommt es zur Freisetzung von intrazellulärem Kalium, was die Signalsteuerung von Zellen, das Membranpotential, sowie den Flüssigkeitshaushalt der Zellen beeinflusst. So kommt es zu Ödemen und Zellverformungen; Zellen quellen durch den steigenden osmotischen Druck auf, der Informationsaustausch zwischen den Zellen wird durch ein verändertes Membranpotential der Zellen beeinflusst. Zellfunktionsstörungen durch den Einfluß auf die Enzyme sind verantwortlich für degenerative Prozesse und eine mangelnde Energieproduktion. So ist die Regeneration der Leber und die Stoffwechselfunktion der Leber durch einen niedrigen pH-Wert stark beeinflusst (177).

Der BE vor Reperfusion zeigt hier deutlich eine metabolische Azidose an und dass das Blut, dass bei der antegraden Reperfusion die Ischämie beendet, weniger Potential hat um weitere saure Valenzen zu kompensieren. So ist der Wert mit  $-14,6$  in der Pfortader mehr als doppelt so negativ wie in der Vena cava ( $-6,5$  suprahepatisch,  $+1,81$  infrahepatisch). Bei der retrograden Reperfusion wird die Ischämie durch Blut beendet, das noch eher in der Lage ist, entstandene saure Valenzen in der Leber zu kompensieren und so die dadurch induzierte Schädigung zu reduzieren. Unsere histologischen Ergebnisse bestätigten diesen Sachverhalt. Das in unseren Messungen der BE infrahepatisch mit  $+1,81$  deutlich über dem suprahepatischen Wert mit  $-6,5$  liegt, kann hier nicht vollständig erklärt werden. Ausgehend von den restlichen Meßwerten wäre ein positiverer BE suprahepatisch zu erwarten gewesen. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass der Stoffwechsel im Einzugsgebiet der Vena cava inferior sehr niedrig ist. Überhalb des Zwerchfells könnte die Atemmuskulatur die weiter Arbeit leisten muß der Grund für diesen negativen BE sein. Um das zu klären wäre eine Versuchsanordnung mit vollständiger Intubation und Beatmung der Ratten notwendig – ohne erhaltene Spontanatmung der Ratten, wie es in dieser Studie gemacht wurde.

Durch das Vorliegen der negativen pH-Werte und dem BE bei der Reperfusion und den damit Verbundenen Einfluß auf den Elektrolythaushalt und die Membran- und Zellfunktionen des betroffenen Gewebes kommt es, wie bereits erwähnt, zur Gewebsschädigung. Sind die Elektrolytverschiebungen und Funktionseinschränkung zu groß bzw. können die Schäden nicht kompensiert werden, kommt es zur Nekrose der betroffenen Zellen, was sich durch unsere histologischen Ergebnisse zeigen läßt. So haben die beiden anterograden Gruppen, die mit einem niedrigen pH-Wert und stark ausgeprägten Basenmangel initial reperfundiert werden die meisten und größten Nekroseherde in der Leber.

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen zeigen, dass bei den antegraden Gruppen die größten Nekroseherde in der Zone 3, nach der Einteilung in Leberazinus, entstehen. Bei der retrograden Gruppe sind es in diesem und auch den anderen Bereichen deutlich weniger. Das kann auch hier darauf zurückgeführt werden, dass bei der retrograden Gruppe Blut mit mehr

Sauerstoff, weniger CO<sub>2</sub>, und normalen Base Excess in die Leber fließt als bei der antegraden Reperfusion. Zumal das Blut retrograd zuerst an die Zellen im Bereich der Zentralvenen (entspricht der Zone 3 mehrerer benachbarter Azini) kommt, die sonst bei völlig normaler Leberdurchblutung das Blut mit den niedrigsten Sauerstoffwerten bekommen, da in diesem Bereich der Sauerstoff aus dem arteriellen Blut schon stark ausgeschöpft ist und die Nährstoffe aus dem Pfortaderblut auch schon resorbiert wurden. Bei einer Transplantation mit antegrader Reperfusion kommt Blut, welches sehr sauer ist, wenig O<sub>2</sub> aufweist und auch noch mit bakteriellen Endotoxin angereichert ist, in die Portalläpchen. Das führt dazu, dass für die Zellen in der Zone 3 keine Reserven mehr zur Verfügung stehen und es so zu einer stärkeren Schädigung in diesem Bereich kommt. Auch die simultane Reperfusion, mit annähernd gleichzeitiger arterieller Reperfusion, kann das Sauerstoffdefizit nicht ausgleichen und das Organ ausreichend mit O<sub>2</sub> versorgen.

Diese Schädigung kann durch die retrograde Reperfusion reduziert werden.

Durch die entstehende Azidose während der anhepatischen Phase sowie den Energieverlust der Leber kommt es zu einem extrazellulären Anstieg des Ca<sup>2+</sup>. Dieser Anstieg des Ca<sup>2+</sup> führt zu einem Einstrom von extracellulärem Ca<sup>2+</sup> in die Hepatozyten und führt bei dem I/R zu einer massiven Zellschädigung. Dieses kann unmittelbar zu Zellapoptose und Organversagen führen (178).

Eventuell ist das ein möglicher Angriffspunkt für einen Therapieansatz um den Ca<sup>2+</sup>-Einstrom zu verhindern und so eine Schädigung zu reduzieren.

Die Zellschädigung erfolgt durch eine Aktivierung von hydrolysierenden Enzymen wie Phospholipasen und Proteasen und bewirkt eine weitere Schädigung des Organs. Diese Organschädigung bzw. der Zelluntergang erfolgt durch die Aktivierung von Apoptosen oder Nekrosekaskaden. Welcher Weg eingeschlagen wird und ob er noch aufgehalten werden kann, hängt unter anderem vom Energiegehalt der betreffenden Zellen ab (28,106,178).

Dieser Sachverhalt spricht ebenfalls für die retrograde Reperfusion, da wie oben erwähnt die Reperfusion mit weniger saurem Blut erfolgt und so weniger Ca<sup>2+</sup>-Einstrom in die Zellen zu erwarten ist. Desweiteren kommt retrograd mehr

Sauerstoff in die Leber, was für den Energiegehalt bzw. Energiegewinnung der Zellen wichtig ist und dadurch eine eventuelle Nekrose oder Apoptose abgewendet werden kann.

Eine weitere Möglichkeit, die Azidose zu reduzieren, ist die Verwendung eines veno-venösen Bypasses bei der Transplantation (87). Durch einen Bypass wird auch noch eine Druckentlastung im portalen Gefäßbett erreicht was einen positiven Effekt auf die Endotoxintranslocation aufweist. Das Herzkreislaufsystem wird durch einen Bypass auch entlastet, da das Blut aus der unteren Körperhälfte zurück zum Herzen kommt und der Auswurf des Herzen nicht gegen ein gefülltes Gefäßbett erfolgen muß. Es gibt aber auch eine Studie, die belegt, dass man auf einen Bypass verzichten kann, auch wenn die Herzauswurfleistung auf 50% zum Zeitpunkt des Ausklemmens der *Vena cava* reduziert wird (190). Ein weiterer Vorteil des Bypasses ist, dass bei seiner Verwendung weniger Entzündungsmediatoren und Zytokine entstehen, die eine Entzündung hervorrufen bzw. unterhalten können (51).

Im Allgemeinen wird heute ohne Verwendung eines veno-venösen Bypasses operiert, da die Verwendung die OP-Zeit verlängert und der Einsatz auch mit erheblichen Kosten verbunden ist. Desweiteren birgt ein Bypass alle Risiken wie sie aus der Herzchirurgie bei Verwendung der Herzlungenmaschine bekannt sind. So muß die Antikoagulation des Patientenblutes angepasst werden, es können Luftembolien auftreten, sowie eine Aktivierung von Gerinnungs- und Entzündungskaskaden an der Fremdoberfläche des Bypasssystems ausgelöst werden. Ebenso können bei der Verwendung eines Bypasses operationstechnische Probleme entstehen.

Auch wenn die Verwendung eines Bypass einige Vorteile mit sich bringt, wie Druckentlastung im portalen Gefäßbett, Pufferung und Minimierung der Azidose durch den Anästhesisten, weniger Mediatoren die Entzündungskaskade initiieren, denke ich, dass man alleine durch die retrograde Reperfusion eine gute Möglichkeit hat die schädigende Einflüsse zu reduzieren und auf eine Verwendung eines Bypasses verzichten kann. Ebenso vermeidet man dadurch mögliche medizinische und technische Probleme die eine Bypassverwendung mit sich bringt. Unsere Studie zeigt, dass man das Ausmaß eines Ischämie-

Reperfusionsschaden nach Lebertransplantation alleine durch die Richtung der Reperfusion signifikant reduzieren kann.

Es gibt aber einen entscheidenden Unterschied zwischen den verschiedenen Reperusionsarten bei einer klinischen Lebertransplantation und unseren Rattenlebertransplantationen.

Bei der humanen klinischen Lebertransplantation wird unter anderem die *Piggy-Back-Technik* durchgeführt und dabei bleibt die Empfänger *Vena cava* im Situs unverändert und die Transplantatleber wird über ihre Lebervenen an die Lebervenen des Empfängers anastomosiert. Nach dieser einzigen Anastomose die im Schnitt ca. 20 min dauert kann die Reperfusion durchgeführt werden. Dabei wird die Klammer an der Lebervene geöffnet und die Konservierungsflüssigkeit wird retrograd über die *Vena cava*, die Lebervenen, der Leber und aus der Pfortader gespült. Im Anschluß daran werden die Pfortader und die Leberarterie abgeklemmt, damit nicht noch weiter Blut verloren geht. Dann wird die Pfortader und die Leberarterie anastomosiert und wieder freigegeben (Dauer 20 min). Bei dieser Technik kann nach 20min der Blutfluß wieder freigegeben werden. Bei der antegraden Reperfusion wird auch zuerst die Lebervene anastomosiert aber bevor wieder Blut durch die Reperfusion in die Leber gelangt, muß die Pfortader anastomosiert werden, was wiederum ca. 20 min dauert. So ist die Zeit der warmen Ischämie (die Zeit in der die Leber im Situs liegt und noch nicht durchblutet wird) doppelt so lang als bei der retrograden Reperfusion. Abgesehen davon ist die Blutzusammensetzung, wie diese Studie zeigt, mit der die Reperfusion gemacht wird, extrem unterschiedlich.

Im Gegensatz dazu ist das tierexperimentelle Modell von der Durchführung etwas anders. Bei der Rattenlebertransplantation ist die Piggy-Back-Technik auf Grund der Größenverhältnisse technisch nicht möglich. Die Spenderleber wird, wie oben beschrieben, aus dem Situs explantiert indem die suprahepatische und die infrahepatische *Vena cava*, sowie die Pfortader, die Leberarterie und der Gallengang durchtrennt werden. Dadurch ergeben sich folgende Unterschiede. Bei der antegraden Reperfusion muss die *suprahepatische Vena cava* und dann die Pfortader anastomosiert werden, was ca. 20min dauert.

Dann kann der Blutfluß freigegeben werden. Die *infrahepatische Vena cava* ist zu diesem Zeitpunkt noch durch Gefäßclips abgeklemmt und wird erst danach anastomosiert. Bei der retrograden Reperfusion müssen im Rattenmodell, im Vergleich zur Piggy-Back-Technik beim Menschen, 2 Anastomosen (*suprahepatische Vena cava und infrahepatische Vena cava*) genäht werden bevor der Blutfluß freigegeben werden kann. So ist im Rattenmodell die Zeit, in der die Leber im Situs des Empfängers liegt und noch nicht durchblutet wird, bei der antegraden und retrograden Technik, gleich lang. Bei der humanen Lebertransplantation ist die Zeit bei der retrograden Technik kürzer, was alleine dadurch schon einen protektiven Effekt auf die Transplantatfunktion hat.

Dieser Sachverhalt, dass die Erwärmungsischämiezeit = Zeit in der das Organ im Empfängersitus liegt aber noch nicht durchblutet wird, bei der Ratten OP länger ist als bei der menschlichen OP, ist bei dieser Studie kein Nachteil. Bei der humanen Lebertransplantation könnte man sagen, der Vorteil der retrograden Reperfusion liegt nur in der kürzeren Erwärmungsischämiezeit und nicht in der Blutflußrichtung, wohingegen in unserer tierexperimentellen Studie auf Grund der technischen Durchführung der Operation die Zeitintervalle bis zur Reperfusion in allen 3 Gruppen gleich gehalten wurden. Da in unserer Studie der protektive Effekt nicht durch die OP-Zeiten beeinflusst wurde, kann man sagen, dass das Beenden der Ischämie mit Blut aus der *Vena cava* im Vergleich zum Blut aus dem Pfortaderkreislauf einen protektiven Effekt hat. So kann man postulieren, dass die retrograde Piggy-Back-Technik beim Menschen 2 wesentliche Vorteile bringt. Zum einen eine kürzere Ischämieerwärmungszeit und zum anderen die protektiven Eigenschaften des Blutes aus der *Vena cava*.

Dabei scheint es nicht wichtig zu sein, dass beim Menschen und der Rattenoperation nach der retrograden Reperfusion, bis zum Zeitpunkt der Pfortaderanastomose kein wirklicher Blutfluß und Blutaustausch in der Leber statt findet, sondern es scheint wichtig zu sein, dass das „richtige“ Blut die Kaltischämie der Transplantatleber beendet welches einen höheren Sauerstoffpartialdruck aufweist und weniger saure Valenzen aufweist.

Ein weiterer Punkt der bei einer Lebertransplantation berücksichtigt werden muß, sind die Auswirkungen auf den Darmbereich während des Ausklemmens

der Pfortader bei einer Transplantation. So konnte gezeigt werden, dass bei einer Lebertransplantation, durch eine verminderte Barrierefunktion des Dünndarms, es zu einer Bakterientranslokation und zu einem Anstieg von Endotoxin im portalvenösen Kreislauf kommt (1,73,244,224). Durch diese Translokation kommt es bei der antegraden Reperfusion zu einem Ende der Ischämie mit bakteriellen Bestandteilen und Endotoxinen, was eine weitere Schädigung der Leber zur Folge haben kann. Es konnte gezeigt werden, dass ein langer intestinaler Blutstau (mehr als 18-21 min), durch eine lange Abklemmzeit der Pfortader, zu einer Endotoxinansammlung und Freisetzung der Toxine bei der Reperfusion führt. Das ist mit unter verantwortlich für eine Aktivierung der *v. Kupffer-Zellen* in der Leber und für die darauffolgende Überproduktion von *TNF- $\alpha$* , was eine Organschädigung nach sich ziehen kann (221).

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass hohe Endotoxinwerte ein schlechtes Outcome bzw. einen eventuellen Organverlust (PNF) bedeuten kann. Bei hohen Endotoxinwerten vor der OP und am Ende der anhepatischen Phase kam es zu Organschädigungen und zu einer Mortalitätssteigerung. Bei Patienten mit einer *PNF* konnte eine hohe Endotoxinämie nachgewiesen werden. Eine Endotoxinämie ist eher ein Grund als ein Effekt von perioperativen Komplikationen (241). Dieser Sachverhalt spielt eine wichtige Rolle. So begünstigen und verstärken Lipopolysaccharide, wie auch Endotoxine, einen Ischämie-Reperfusionsschaden. Es zeigt sich dabei eine verstärkte Aktivierung von Neutrophilen Granulozyten und somit eine Initiierung von Entzündungskaskaden (35,238,45). Dass diese Endotoxine eine wichtige Rolle bei dem I/R spielen, zeigte eine Studie in der ein reduzierter I/R bei Ratten auftrat, bei denen eine Toleranz gegen Endotoxine induziert wurde. Bei den Endotoxin-toleranten Ratten wurde keine erhöhte Expression von *TNF- $\alpha$  mRNA* in den Lebern gemessen (53).

Ein Reperfusionsschaden, nach kalter ischämischer Organkonservierung, ist gekennzeichnet durch einen Endothelzelluntergang nach kalter ischämischer Organkonservierung. Die Endothelzellfensterung wird dabei weiter. Die weitere Fensterung erlaubt nun eingeschwemmtes Endotoxin und Neutrophilen, die aus dem Darm bei der antegraden Reperfusion angespült werden eine massive

Schädigung durch Anlagerung in den Sinusoiden. Durch diese Anlagerung kommt es zu einer Störung der Mikrozirkulation (21). Lipopolysaccharide selbst verursachen einen erhöhten Widerstand in der Pfortader und nehmen so negativen Einfluß auf die Organdurchblutung (66). Wenn man postuliert, dass durch die retrograde Richtung weniger Lipopolysaccharide in die Leber gespült werden und dadurch auch weniger Anlagerung stattfindet – so wird weniger auf die Mikrozirkulation negativ einfluß genommen und die Leber wird nach Anschluß aller Gefäße besser durchblutet und mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt. Auch hier spricht es dafür, die Beendigung der Kaltischämiezeit durch die retrograde Reperfusion zu vollführen, da hierbei die Anlagerung der Endotoxine und Neutrophilen an den Endothelzellfensterungen nicht so stark zu erwarten sind. Desweiteren ist die retrograde Organperfusion eine gute und einfache Möglichkeit die Konservierungslösung aus dem Organ zu spülen ohne systemische Folgen erwarten zu müssen.

Bei einer klinischen Lebertransplantation wäre eine Endotoxinreduktion durch die Verwendung eines Bypasses auf Grund der geringeren Stauung im Portalkreislauf möglich, würde aber die Risiken und den Aufwand einer Bypassverwendung beinhalten. Auch hier zeigen sich die Vorteile der Retrograden Reperfusionsmethode. Die Ergebnisse sind besser und ein Bypass ist nicht nötig.

Durch diese Fakten und Faktoren der Bakterien bezüglich ihren Einfluß auf einen Ischämie-Reperfusionsschaden kann man schließen, dass die retrograde Reperfusion besser ist als die antegrade, weil hier die Ischämie mit Blut beendet wird in dem keine Endotoxine und Bakterien vorliegen. Durch diese initialen Vorteile der retrograden Reperfusion scheint die Leber weniger anfällig zu sein für die Endotoxine, die auch bei der retrograden Reperfusion nach Anschluß der Pfortader und wiederfreigabe des Blutflusses, eingespült werden.

## 6.4 Eigene Kommentare zu der durchgeführten Studie.

- Die Beobachtungszeit

In dieser tierexperimentellen Studie betrug die Beobachtungszeit 48 h. Da einige Ergebnisse, wie z.B. der Werteverlauf der  $\gamma$ -GT in der Gruppe III, Bilirubin in der Gruppe I und der Verlauf der AP in allen 3 Gruppen darauf hinweisen, dass der maximale Anstieg noch nicht erfasst wurde, sollte eine Studie durchgeführt werden, mit einem längeren Beobachtungsintervall bzw. mit dem Tod der Tiere als Endpunkt, um den entstehenden Schaden vollständig erfassen zu können. So könnte man auch Schäden die später entstehen, wie z.B. *ITBL* beurteilen und evtl. Unterschiede der Reperfusionsmethoden deutlicher erfassen. Hinweise darauf liefern die Daten aus Berlin, die bei einer klinischen Studie beobachtet haben, dass bei einer retrograden Reperfusion und einem Beobachtungsintervall von 7 Tagen deutlich mehr *ITBL* auftraten als in der antegraden simultan reperfundierten Gruppe (73).

- Testung der Reperfusion bei syngenem Ratten.

Der nächste Schritt um zu klären ob es einen signifikanten Unterschied durch die verschiedenen Reperfusionsmethoden gibt, ist die Durchführung einer Studie an nicht syngenem Ratten, um den Bereich der Organabstoßung mit all ihren Mechanismen zu integrieren. Desweiteren muß eine immunsuppressive Therapie in das Studienprotokoll mit aufgenommen werden um eine noch bessere Vergleichbarkeit mit einer humanen klinischen Lebertransplantation zu erreichen.

- Lebertransplantation an gesunden Ratten.

Um eine Aussage treffen zu können ob wirklich eine Reperfusionsmethode besser ist als die andere müssen Transplantationen ähnlich der klinischen Lebertransplantation durchgeführt werden. So muß der Umstand berücksichtigt werden, dass in der klinischen Lebertransplantation oft auch marginale Organe zur Transplantation verwendet werden müssen (183). Es muß geklärt werden, ob bei Rattenlebertransplantationen mit marginalen Organen die Vorteile unserer Studie bestätigt werden können, ob eventuell noch größere

Unterschiede zwischen den Reperfusionsmethoden auftreten, oder ob kein signifikanter Vorteil bei solchen Organen zu verzeichnen ist. Eine Möglichkeit wäre Ratten mit Fettlebern zu transplantieren um zu evaluieren wie sich der I/R und die Reperfuionsrichtung hierbei verhalten. Fettlebern bei Ratten können durch eine spezielle Ernährung induziert werden.

- Konservierungszeit und Konservierungslösung

In dieser Studie war die Ischämiedauer auf 2 h begrenzt und als Perfusions- und Konservierungslösung wurde 0,9 % NaCl-Lösung verwendet. Um die Operation mit einer klinischen Lebertransplantation vergleichen zu können muss eine Studie durchgeführt werden mit Ischämiezeiten wie sie bei einer humanen Organübertragung vorkommen. Ebenso sollten Konservierungslösungen benutzt werden die im klinischen Alltag eingesetzt werden. Da die Länge der Konservierungsdauer verantwortlich ist für die Anlagerung von Leukozyten an die sinusoidalen Endothelzellen, sowie für die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen und die Initiierung der Komplementkaskade, und somit für die Schädigung des Organs verantwortlich ist, müssen diese Parameter berücksichtigt werden (146,216).

Um weitere Vergleichbarkeit zwischen Tierexperiment und humaner Lebertransplantation zu erreichen, muß die Grund-OP-Methode vergleichbar sein. In unserer Studie wurde eine Lebertransplantation mit *Vena cava-Ersatz* durchgeführt. In der klinischen Praxis gibt es diese OP ebenfalls, aber auch die *Piggy-back Technik* und die modifizierte Technik nach *Belgithi* (wie oben beschrieben). Alle sind möglich, unterscheiden sich aber doch in den einzelnen Präparationsschritten, Anastomosenanzahlen und dadurch auch in den verschiedenen Zeitabschnitten – wie in der warmen Ischämiezeit. Auch dieser Sachverhalt muß berücksichtigt werden wenn man auf der Suche nach der optimalen Operations- und Reperfuionsmethode ist und tierexperimentelle Studien durchführt die vergleichbar mit einer klinischen Lebertransplantation sein sollen.

## 7 Anmerkungen zur Transplantationsmedizin

Es ist absolut notwendig weiter zu erforschen wie die Mechanismen und Pathomechanismen der Organübertragung funktionieren um bessere Ergebnisse zu erreichen und auch die Übertragung marginaler Organe erfolgreich zu verwirklichen. Aber man muss auch versuchen die Spendebereitschaft und die Anzahl der Organspenden zu erhöhen um den wachsenden Bedarf an Organen gerecht zu werden, damit nicht zu viele Patienten auf den Wartelisten versterben bzw. erst zu einem Zeitpunkt ein Organ bekommen bei dem die Patienten schon sehr schlechte Ausgangsbedingungen für eine Transplantation haben. Dass die Zahl der möglichen Spender noch erhöht werden kann zeigte eine Studie die im Zeitraum von 2002-2005 im Nord-Osten von Deutschland durchgeführt wurde. Es wurden alle potentiellen Organspender in den Kliniken untersucht und man kam zu dem Schluss, dass in Deutschland bis zu 40 Organspender pro 1 Mio. Einwohner pro Jahr aus medizinischer Sicht möglich wären (233). Anstatt wie aktuell von der DSO veröffentlicht, im bundesweiten Durchschnitt nur 15,9 Organspender pro 1Mio Einwohner und Jahr (42). Ziel muss es sein durch gezielte Aufklärung in den Kliniken sowie in der Bevölkerung, durch neuere Strukturen und eine bessere Organisation in den Kliniken die Organspendezahl zu erhöhen um so mehr Organe für Transplantationen gewinnen zu können bzw. die Verwendung von marginalen Organen zu reduzieren. Es stellt sich die Frage ob es Sinn macht es auszureizen auch die schlechtesten Organe zu transplantieren um den Patienten helfen zu können oder ob man das Organangebot in Deutschland dadurch erhöht, und zwar massiv erhöht, in dem man vielleicht die gesetzliche Grundlage dafür ändert bzw. schafft wie es in Spanien und Österreich der Fall ist. Dort gilt nicht die Zustimmungslösung wie in Deutschland, sondern das Widerspruchsgesetz, was bedeutet: Jeder ist Organspender – es sei denn er hat sich zu Lebzeiten aktiv dagegen ausgesprochen. In diesem System muss dann auch nicht im Falle des Falles ein Angehöriger entscheiden was wohl der mutmaßliche Wille des Verstorbenen gewesen war. Ein weiterer Vorteil einer möglichen Steigerung der Organspende ist, auch wenn ein marginales Organ verwendet wird ist ein besseres Ergebnis zu erwarten, wenn der Patient zu einem früheren Zeitpunkt

und dadurch besseren klinischen Zustand transplantiert wird, weil die Wartezeit auf ein Organ durch vermehrte Spender verkürzt werden kann. Ebenso kann die Notwendigkeit einer Leber-Lebend-Spende eventuell reduziert werden. Das ist auch ein positiver Effekt, denn eine Leber-Lebend-Spende birgt große Risiken für den Spender die nicht vernachlässigt werden dürfen. Ein letzter Punkt zu den Organspendezahlen. Es muss natürlich auch die Indikationsstellung für eine Transplantation genau geprüft werden. So ist die Transplantation bei einem Tumorleiden wie das HCC an genaue Richtlinien geknüpft (*Milan-Kriterien*) und es muss untersucht werden ob diese Patienten einen Benefit durch diese OP haben oder nicht. Es ist nicht vertretbar, einem Patienten, der ein Tumorleiden hat eine gute Leber zu transplantieren, wenn dieser innerhalb kürzester Zeit an einem Rezidiv erkrankt und verstirbt und ein anderer Patient, der eine Heilung durch eine Lebertransplantation erfahren könnte auf der Warteliste verstirbt, weil kein Organ auf Grund zu geringer Spendebereitschaft für ihn zur Verfügung steht.

Um die Ergebnisse der Lebertransplantation zu verbessern muss es auch erlaubt sein die Praxis der Organallokation zu hinterfragen. So stehet in den Statuten von Eurotransplant die Prämisse: Eine Organallokation folgt nach der Dringlichkeit und der Erfolgsaussicht. Diese 2 Bedingungen widersprechen sich aber zum teil. So zeigte sich in den letzten Jahren, nach Einführung der MELD-Allokation, dass zwar die Mortalität auf der Warteliste von 20 auf 10% gesenkt werden konnte, aber das Outcome nach Lebertransplantation ist von fast 90 % auf unter 80 % gesunken was das 1-Jahresüberleben betrifft (188). Da es zu wenig Organe gibt, bekommt ein Patient erst ein Organ wenn es ihm schon sehr schlecht geht. Erreicht ein Patient einen MELD-Score von über 30 bis zur Transplantation, ist seine Überlebenschance und eine erfolgreiche Lebertransplantation deutlich reduziert im Vergleich zu Patienten mit niedrigerem MELD Score (232). Die Kombination aus hohem MELD-Score und einem marginalem Spenderorgan lässt die Chance auf eine erfolgreiche Lebertransplantation sinken. So muss man überlegen, ob es eine bessere oder erweiterte Organallokationsrichtlinie gibt als den MELD-Score um die Ergebnisse zu verbessern. Die Patienten die eine Lebertransplantation bekommen, werden nicht nur kränker sondern die Organe werden auf Grund

der Akzeptanz immer älterer Organspender auch marginaler (183,52).

Da stellt sich die Frage ob man nicht noch weitere Parameter und Indikatoren bei der Allokation berücksichtigen muss, um die Ergebnisse wieder zu verbessern. So müssen die Organspenderdaten und die Umstände der Spende mehr berücksichtigt werden. So könnte z.B. die räumliche Entfernung von Spender und Empfänger mehr Berücksichtigung finden um die Kaltischämiezeit der Leber zu minimieren. Ebenso muss es auch ein Spender-Risikoprofil geben, um zu klären welche Organe von welchen Spendern überhaupt noch erfolgreich transplantiert werden können.

Ein weiterer Punkt der im internationalen Vergleich auffällt ist, dass es in Deutschland 22 Kliniken gibt, die ein Lebertransplantationsprogramm haben. Bezogen auf die Einwohner sind das mehr Zentren als in den meisten anderen Ländern im ET-Verbund. In Deutschland sind es 2,8 Zentren pro 10 Mio. Einwohner, die Niederlande haben 1,8 Zentren, das vereinigte Königreich 1,3 Zentren pro 10 Mio. Einwohner (183). Eine Reduktion der Kliniken und somit eine Bündelung der Kompetenzen hätte in diesem Bereich sicherlich auch einen positiven Einfluss auf die Ergebnisse der Lebertransplantationen, da in den dann wenigen Zentren mehr Erfahrung und Kompetenz bezüglich der Organübertragung vorhanden wäre. Die Kliniken sind dann nicht auf jedes marginale Organ angewiesen, das sie transplantieren möchten, um das Transplantationsprogramm weiterführen zu können. Es zeigt sich, dass die Transplantationsergebnisse in Ländern mit weniger Zentren und bevorzugt regionaler Organallokation und zentrumsbasierter Allokation wie z.B. in Österreich, U.K., oder Australien besser sind, da sie die Ischämiezeiten kurz halten können und für das angebotene Organ den optimalen Empfänger auswählen können (183). So sollte man überlegen ob die Allokation durch den Meld-Score, der die Dringlichkeit in den Vordergrund stellt, nicht überdacht werden muss. Natürlich muss die Forschung weiter gehen um die Mechanismen der Organabstoßung und der Schädigung durch die Operation bzw. Transplantation zu verstehen und um sie verhindern zu können, aber im Sinne der Patienten sollte eine verbesserte Spenderbereitschaft in Deutschland angestrebt werden. So gibt es viele Möglichkeiten die Transplantationschirurgie und Medizin zum Wohle der Patienten weiter zu entwickeln.

## 8 Zusammenfassung

Die Lebertransplantation ist heute eine Standardtherapie bei der Behandlung von Lebererkrankungen im Endstadium. Trotz der ständigen Weiterentwicklung in der Transplantationschirurgie und Medizin ist es heute ein Verfahren welches nicht frei von Risiken ist. Ein Problem welches sich klinisch zeigt ist eine verzögerte Organfunktion bzw. Organversagen direkt nach der Transplantation durch den entstehenden **Ischämie-Reperfusionsschaden**. Zu dieser Problematik kommt es durch die Operation an sich. Der Ausprägungsgrad aber ist abhängig von vielen Faktoren, die zum Zeitpunkt der Operation nicht mehr geändert werden können. So spielen die Qualität der Leber (Verfettungsgrad), ihre Ischämiezeit, das verwendete Konservierungsmittel, der Zustand des Spenders und Empfängers eine wichtige Rolle für den Erfolg einer Transplantation.

Worauf der Operateur Einfluss nehmen kann ist die Operationstechnik und die Art der Reperfusionsmethode bei der Transplantation.

### **Modell:**

In der vorliegenden tierexperimentellen Studie wurden 3 verschiedene Reperfusionsmethoden (Gruppe I-III) bei Lebertransplantationen an syngen Ratten miteinander verglichen und dargelegt warum die initiale retrograde Reperfusion via *Vena cava inferior* mit einer geringeren Organschädigung einhergeht als bei einer initialen antegraden Reperfusion via Portalvene und im Anschluss die Anastomose der A. hepatica oder simultan antegrad- über die Pfortader und A.hepatica.

Bei den Empfängertieren der Gruppe IV wurde eine Operation wie bei einer Lebertransplantation durchgeführt und die Gefäße in gleicher Art und Weise sowie Reihenfolge wie bei dieser Operation präpariert und abgeklemmt. Im Anschluß daran wurden Blutproben nach Ablauf der anhepatischen Zeit, zum Zeitpunkt der möglichen Reperfusion bei der Transplantation, d.h. nach Fertigstellung der Gefäßanastomosen, aus allen Anastomosenbereichen für die analytische Blutgaswertbestimmung entommen. Durch die Analyse der metabolischen Zusammensetzung der Blutproben wurde ermittelt mit

welcher Blutqualität die Reperfusion erfolgt. Die Gruppengröße betrug 7 Tiere. Als Versuchstiere wurden *LEWIS-Ratten* verwendet.

Um den entstehenden Organschaden zu quantifizieren wurden nach der Transplantation in definierten Abständen (1 h, 24 h und 48 h) Blut entnommen und die Serumparameter von GOT, GPT, Bilirubin, alkalischer Phosphatase und GLDH im Institut für klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der TU München bestimmt.

48 h nach der Transplantation wurden die Versuchstiere sakrifiziert und die Transplantatlebern für histologische Untersuchung entnommen. Diese Untersuchungen wurden im Institut für Pathologie und pathologische Anatomie des Klinikums rechts der Isar der TU München vorgenommen.

### **Ergebnisse:**

Die retrograd reperfundierten Transplantatlebern zeigten sowohl laborchemisch, wie auch histologisch geringere Anzeichen für eine Schädigung als die anterograd reperfundierten Lebern. So war die Aktivität der GOT in der Gruppe III bereits nach 24 h signifikant geringer als in den Gruppen I und II. Die Aktivität der GPT verhielt sich ähnlich. Sie war sowohl 24 als auch 48 h nach der Transplantation in der Gruppe III signifikant geringer als in den Gruppen I und II. Die AP zeigte einen signifikanten Vorteil der retrograden Reperfusion erst nach 48 h. Die GLDH-Aktivität war in der Gruppe III sowohl 24, als auch 48 h signifikant geringer als in der Gruppe II. Die Bilirubinwerte zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Zwischen den Gruppen I und II zeichnete sich ein Vorteil für die Gruppe mit nicht simultaner Reperfusion ab. Signifikant niedriger waren hier in der Gruppe I die Aktivitäten von GOT und GPT nach 24 h und 48 h, sowie die Aktivität der GLDH nach 48 h.

Die histologischen Untersuchungen bestätigten die Ergebnisse der laborchemischen Serumparamter. So zeigten sich in der Gruppe III signifikant weniger Nekroseherde als in den beiden anderen Gruppen. Die Ausprägung der Herde war in der Gruppe III signifikant geringer als in Gruppe I. Die Nekroseverteilung in den verschiedenen Zonen eines

Leberazinus zeigte ein signifikant häufigeres Vorkommen von Nekrosen in den Zonen 1 und 2 der Gruppe I im Vergleich zu denen der Gruppe III.

Bei den laborchemischen Untersuchungen der Blutproben aus den Gefäßabschnitten der Gruppe IV zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der *Pfortader* (PV) und der *suprahepatischen Vena cava inferior* (VCS) sowie der *infrahepatischen Vena cava inferior* (VCI).

Bei dem CO<sub>2</sub>-Partialdruck zeigte sich ebenso eine Signifikanz zwischen PV und VCI sowie VCS. Aber hier zeigte sich auch noch ein signifikanter Unterschied zwischen VCI und VCS.

Bei dem O<sub>2</sub>-Partialdruck war eine Signifikanz zwischen der PV und VCS sowie zwischen der VCI und VCS festzustellen jedoch nicht zwischen PV und VCI. Ebenso verhält es sich bei der Sauerstoffsättigung.

Bei dem Base Excess konnten signifikante Unterschiede zwischen allen Gefäßabschnitten gemessen werden.

### **Schlussfolgerung:**

Im Rahmen einer Lebertransplantation kommt es nach der Reperfusion der Transplantatleber zu einem **Ischämie-Reperfusionsschaden**, welcher zu einer Mikrozirkulationsstörung und Zelluntergang führen kann. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass dieser Schaden der transplantierten Rattenlebern deutlich geringer ausgeprägt ist, wenn die initiale Reperfusion bei der Transplantation retrograd über die *Vena cava inferior* erfolgt und nicht antegrad über die Pfortader und Leberarterie.

Verantwortlich hierfür ist die Qualität des Blutes mit dem die Reperfusion durchgeführt wird. So ist das Blut aus der *Vena cava inferior* weniger azidotisch, der Kohlendioxidpartialdruck ist deutlich geringer, der Sauerstoffgehalt und die Sauerstoffsättigung ist deutlich höher, und der Base Excess ist nicht so negativ, wie das Blut aus dem Pfortaderkreislauf welches die Ischämie bei antegrader Reperfusion beendet.

Gegenstand weiterer Forschung sollte es nun sein die retrograde Reperfusion im Tiermodell weiter zu evaluieren, klinische Parameter zu integrieren,

um so die Pathomechanismen des Ischämie-Reperfusionsschadens besser verstehen zu können und so die Technik weiter auf klinische Lebertransplantationen extrapolieren zu können. Die retrograde Reperfusion stellt eine Möglichkeit dar einen Ischämie-Reperfusionsschaden zu reduzieren und so die Ergebnisse einer Lebertransplantation zu verbessern und einen Vorteil bezüglich der Organfunktion und des Überlebens der Patienten zu erreichen.

## 9 Literaturverzeichnis

1. Abdala, E., Baia, C. E., Mies, S., Massarollo, P. C., de Paula, Cavalheiro N., Baia, V. R., Inacio, C. A., Sef, H. C., and Barone, A. A. Bacterial translocation during liver transplantation: a randomized trial comparing conventional with venovenous bypass vs. piggyback methods. *Liver Transpl.* 13 (2007) S. 488 - 496
2. Adkison, D., Hollwarth, M. E., Benoit, J. N., Parks, D. A., McCord, J. M., and Granger, D. N. Role of free radicals in ischemia-reperfusion injury to the liver. *Acta Physiol Scand.Suppl.* 548 (1986) S. 101 - 107
3. Amersi, F., Nelson, S. K., Shen, X. D., Kato, H., Melinek, J., Kupiec-Weglinski, J. W., Horwitz, L. D., Busuttil, R. W., and Horwitz, M. A. Bucillamine, a thiol antioxidant, prevents transplantation-associated reperfusion injury. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 99 (2002) S. 8915 - 8920
4. Arai, M., Thurman, R. G., and Lemasters, J. J. Ischemic preconditioning of rat livers against cold storage-reperfusion injury: role of nonparenchymal cells and the phenomenon of heterologous preconditioning. *Liver Transpl.* 7 (2001) S. 292 - 299
5. Ardizzone, G., Stratta, C., Valzan, S., Crucitti, M., Gallo, M., and Cerutti, E. Acute blood leukocyte reduction after liver reperfusion: a marker of ischemic injury. *Transplant.Proc.* 38 (2006) S. 1076 - 1077
6. Arndt, H., Kubes, P., and Granger, D. N. Involvement of neutrophils in ischemia-reperfusion injury in the small intestine. *Klin.Wochenschr.* 69 (1991) S. 1056 - 1060
7. Bacchella, T., Galvao, F. H., Jesus de Almeida, J. L., Figueira, E. R., de Moraes A., and Cesar Machado, M. C. Marginal grafts increase early mortality in liver transplantation. *Sao Paulo Med.J.* 126 (2008) S. 161 - 165
8. Bahde, R., Palmes, D., Gemsa, O., Minin, E., Stratmann, U., de Groot, H., Rauen, U., and Spiegel, H. U. Attenuated cold storage injury of rat livers using a modified HTK solution. *J.Surg.Res.* 146 (2008) S. 49 - 56
9. Banga, N. R., Homer-Vanniasinkam, S., Graham, A., Al Mukhtar, A., White, S. A., and Prasad, K. R. Ischaemic preconditioning in transplantation and major resection of the liver. *Br.J.Surg.* 92 (2005) S. 528 - 538

10. Bedirli, N., Ofluoglu, E., Kerem, M., Utebey, G., Alper, M., Yilmazer, D., Bedirli, A., Ozlu, O., and Pasaoglu, H. Hepatic energy metabolism and the differential protective effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia in a rat hepatic ischemia-reperfusion injury model. *Anesth.Analg.* 106 (2008) S. 830 - 7, table
11. Belghiti, J., Sauvanet, A., Panis, Y., Gayet, B., and Fekete, F. [Liver transplantation without clamping of the inferior vena cava]. *Presse Med.* 21 (1992) S. 569 - 571
12. Bellomo, G., Fulceri, R., Albano, E., Gamberucci, A., Pompella, A., Parola, M., and Benedetti, A. Ca(2+)-dependent and independent mitochondrial damage in hepatocellular injury. *Cell Calcium.* 12 (1991) S. 335 - 341
13. Belzer, F. O. and Southard, J. H. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation.* 45 (1988) S. 673 - 676
14. Bindoli, A. Lipid peroxidation in mitochondria. *Free Radic.Biol.Med.* 5 (1988) S. 247 - 261
15. Bonney, G. K., Aldouri, A., Attia, M., Lodge, P. A., Toogood, G. J., Pollard, S. G., and Prasad, R. Outcomes in right liver lobe transplantation: a matched pair analysis. *Transpl.Int.* 21 (2008) S. 1045 - 1051
16. Breitenstein, S., Apestegui, C., Petrowsky, H., and Clavien, P. A. "State of the art" in liver resection and living donor liver transplantation: a worldwide survey of 100 liver centers. *World J.Surg.* 33 (2009) S. 797 - 803
17. Briceno, J., Marchal, T., Padillo, J., Solorzano, G., and Pera, C. Influence of marginal donors on liver preservation injury. *Transplantation.* 74 (2002) S. 522 - 526
18. Broelsch, ChE, Neuhaus, P., Wonigeit K, and Pichlmayr, R. Lebertransplantation, Wunschdenken oder Realität? 34 (1984) S. 4033 - 4037
19. Broelsch, C. E., Neuhaus, P., and Pichlmayr, R. [Current state of liver transplantation]. *Z.Gastroenterol.Verh.* 17 (1982) S. 117 - 122
20. Bzeizi, K. I., Dawkes, R., Dodd, N. J., Plevris, J. N., and Hayes, P. C. Graft dysfunction following liver transplantation: role of free radicals. *J.Hepatol.* 26 (1997) S. 69 - 74
21. Caldwell-Kenkel, J. C., Currin, R. T., Tanaka, Y., Thurman, R. G., and Lemasters, J. J. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: effects of reperfusion. *Hepatology.* 13 (1991) S. 83 - 95

22. Calmus, Y. [Liver transplantation for cancer]. *Rev.Prat.* 58 (2008) S. 1745 - 1748
23. Calne, R. Y., White, D. J., Thiru, S., Evans, D. B., McMaster, P., Dunn, D. C., Craddock, G. N., Pentlow, B. D., and Rolles, K. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet.* 2 (1978) S. 1323 - 1327
24. Campos, B. D. and Botha, J. F. Transplantation for hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *J.Natl.Compr.Canc.Netw.* 7 (2009) S. 409 - 416
25. Cao, L., Li, Y., Cheng, F., Li, S., and Long, D. Hypoxia/reoxygenation up-regulated the expression of death receptor 5 and enhanced apoptosis in human hepatocyte line. *Transplant.Proc.* 38 (2006) S. 2207 - 2209
26. Caraceni, P., Gasbarrini, A., Nussler, A., Di Silvio, M., Bartoli, F., Borle, A. B., and Van Thiel, D. H. Human hepatocytes are more resistant than rat hepatocytes to anoxia-reoxygenation injury. *Hepatology.* 20 (1994) S. 1247 - 1254
27. Carini, R., Autelli, R., Bellomo, G., Dianzani, M. U., and Albano, E. Sodium-mediated cell swelling is associated with irreversible damage in isolated hepatocytes exposed to hypoxia or mitochondrial toxins. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 206 (1995) S. 180 - 185
28. Cheung, J. Y., Bonventre, J. V., Malis, C. D., and Leaf, A. Calcium and ischemic injury. *N.Engl.J.Med.* 314 (1986) S. 1670 - 1676
29. Chien, K. R., Abrams, J., Serroni, A., Martin, J. T., and Farber, J. L. Accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction in irreversible, ischemic liver cell injury. *J.Biol.Chem.* 253 (1978) S. 4809 - 4817
30. Child, CG and Turcotte, JG. Surgery and portal hypertension In: *The liver and portal hypertension* (1964) S. 50 - 64
31. Chiu, K. W., Chen, Y. S., de Villa, V. H., Wang, C. C., Eng, H. L., Wang, S. H., Liu, P. P., Javan, B., Huang, T. L., Cheng, Y. F., and Chen, C. L. Characterization of liver enzymes on living related liver transplantation patients with acute rejection. *Hepatogastroenterology.* 52 (2005) S. 1825 - 1827
32. Clavien, P. A. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion. *Hepatology.* 28 (1998) S. 281 - 285
33. Clavien, P. A., Harvey, P. R., and Strasberg, S. M. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation.* 53 (1992) S. 957 - 978

34. Clemens, M. G., Bauer, M., Pannen, B. H., Bauer, I., and Zhang, J. X. Remodeling of hepatic microvascular responsiveness after ischemia/reperfusion. *Shock*. 8 (1997) S. 80 - 85
35. Colletti, L. M. and Green, M. Lung and liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat is increased by exogenous lipopolysaccharide which also increases hepatic TNF production in vivo and in vitro. *Shock*. 16 (2001) S. 312 - 319
36. Conti, A., Scala, S., D'Agostino, P., Alimenti, E., Morelli, D., Andria, B., Tammaro, A., Attanasio, C., Ragione, F. D., Scuderi, V., Fabbrini, F., D'Esposito, M., Di Florio, E., Nitsch, L., Calise, F., and Faiella, A. Wide gene expression profiling of ischemia-reperfusion injury in human liver transplantation. *Liver Transpl*. 13 (2007) S. 99 - 113
37. Cray, S. H., Crawford, M. W., Khayyam, N., and Carmichael, F. J. Effects of hypoxia and isoflurane on liver blood flow: the role of adenosine. *Br.J.Anaesth*. 86 (2001) S. 425 - 427
38. Daniela, K., Michael, Z., Florian, I., Silvia, S., Estrella, J., Doris, D., and Karl-Heinz, T. Influence of retrograde flushing via the caval vein on the post-reperfusion syndrome in liver transplantation. *Clin.Transplant*. 18 (2004) S. 638 - 641
39. Del Maestro, R. F. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand.Suppl*. 492 (1980) S. 153 - 168
40. Deschenes, M., Belle, S. H., Krom, R. A., Zetterman, R. K., and Lake, J. R. Early allograft dysfunction after liver transplantation: a definition and predictors of outcome. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Transplantation*. 66 (1998) S. 302 - 310
41. Deutsche Stiftung Organtransplantation. Organspende u. Transplantation in Deutschland 2009 Jahresbericht (2010) S. 41 - 42
42. Deutsche Stiftung Organtransplantation. Organspende u. Transplantation in Deutschland 2009 Jahresbericht (2010) S. 26 - 26
43. DiMartini, A., Fontes, P., Dew, M. A., Lotrich, F. E., and de Vera, M. Age, model for end-stage liver disease score, and organ functioning predict posttransplant tacrolimus neurotoxicity. *Liver Transpl*. 14 (2008) S. 815 - 822
44. Dörner, K., Battista, H.-J., Deufel, Th, Dörner, R., Gibitz, H. J., Klingmüller, D., Löffler, H., Sommer, R., and Witt, I. Leberdiagnostik. In:"Klinische Chemie und Hämatologie", Dörner, K. (Hrsg.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, (2003) 5.Auflage, S.384-406

45. El Wahsh, M., Fuller, B., Davidson, B., and Rolles, K. Hepatic cold hypoxia and oxidative stress: implications for ICAM-1 expression and modulation by glutathione during experimental isolated liver preservation. *Cryobiology*. 47 (2003) S. 165 - 173
46. Engemann, R. Technique for orthotopic rat liver transplantation. In: "In: Microsurgical models in rats for transplantation research", Thiede, A. (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin, (1985) S.69-75
47. Engerson, T. D., McKelvey, T. G., Rhyne, D. B., Boggio, E. B., Snyder, S. J., and Jones, H. P. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat tissues. *J.Clin.Invest.* 79 (1987) S. 1564 - 1570
48. Fan, Y. D., Praet, M., Vanzieleghe, B., Vanwynsberghe, D., Stoop, D., Leroux-Roels, G., Delanghe, J., and de Hemptinne, B. Effects of Re-arterialization on early graft function and regeneration in the rat model of heterotopic auxiliary liver transplantation. *Eur.Surg.Res.* 32 (2000) S. 11 - 17
49. Farber, J. L. The role of calcium in cell death. *Life Sci.* 29 (1981) S. 1289 - 1295
50. Farber, J. L. and Young, E. E. Accelerated phospholipid degradation in anoxic rat hepatocytes. *Arch.Biochem.Biophys.* 211 (1981) S. 312 - 320
51. Faybik, P., Hetz, H., Krenn, C. G., Baker, A., Berlakovich, G. A., and Steltzer, H. Perioperative cytokines during orthotopic liver transplantation without venovenous bypass. *Transplant.Proc.* 35 (2003) S. 3019 - 3021
52. Feng, S., Goodrich, N. P., Bragg-Gresham, J. L., Dykstra, D. M., Punch, J. D., DebRoy, M. A., Greenstein, S. M., and Merion, R. M. Characteristics associated with liver graft failure: the concept of a donor risk index. *Am.J.Transplant.* 6 (2006) S. 783 - 790
53. Fernandez, E. D., Flohe, S., Siemers, F., Nau, M., Ackermann, M., Ruwe, M., and Schade, F. U. Endotoxin tolerance protects against local hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J.Endotoxin.Res.* 6 (2000) S. 321 - 328
54. Flisiak, R. Role of Ito cells in the liver function. *Pol.J.Pathol.* 48 (1997) S. 139 - 145
55. Florine-Casteel, K., Lemasters, J. J., and Herman, B. Lipid order in hepatocyte plasma membrane blebs during ATP depletion measured by digitized video fluorescence polarization microscopy. *FASEB J.* 5 (1991) S. 2078 - 2084

56. Gao, W., Lemasters, J. J., and Thurman, R. G. Development of a new method for hepatic rearterialization in rat orthotopic liver transplantation. Reduction of liver injury and improvement of surgical outcome by arterialization. *Transplantation*. 56 (1993) S. 19 - 24
57. Gasbarrini, A., Borle, A. B., Farghali, H., Bender, C., Francavilla, A., and Van Thiel, D. Effect of anoxia on intracellular ATP, Na<sup>+</sup>i, Ca<sup>2+</sup>i, Mg<sup>2+</sup>i, and cytotoxicity in rat hepatocytes. *J.Biol.Chem.* 267 (1992) S. 6654 - 6663
58. Gatmaitan, Z., Varticovski, L., Ling, L., Mikkelsen, R., Steffan, A. M., and Arias, I. M. Studies on fenestral contraction in rat liver endothelial cells in culture. *Am.J.Pathol.* 148 (1996) S. 2027 - 2041
59. Giacomoni, A., Lauterio, A., Donadon, M., De Gasperi, A., Belli, L., Slim, A., Dorobantu, B., Mangoni, I., and De Carlis, L. Should we still offer split-liver transplantation for two adult recipients? A retrospective study of our experience. *Liver Transpl.* 14 (2008) S. 999 - 1006
60. Gidlof, A., Lewis, D. H., and Hammersen, F. Fine structure of the human skeletal muscle capillary. A morphometric analysis. *Int.J.Microcirc.Clin.Exp.* 7 (1988) S. 43 - 66
61. Gondolesi, G. E., Lausada, N., Schinella, G., Semplici, A. M., Vidal, M. S., Luna, G. C., Toledo, J., de Buschiazzo, P. M., and Raimondi, J. C. Reduction of ischemia-reperfusion injury in parenchymal and nonparenchymal liver cells by donor treatment with DL-alpha-tocopherol prior to organ harvest. *Transplant.Proc.* 34 (2002) S. 1086 - 1091
62. Gores, G. J., Herman, B., and Lemasters, J. J. Plasma membrane bleb formation and rupture: a common feature of hepatocellular injury. *Hepatology*. 11 (1990) S. 690 - 698
63. Granger, D. N. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am.J.Physiol.* 255 (1988) S. H1269 - H1275
64. Granger, D. N., Benoit, J. N., Suzuki, M., and Grisham, M. B. Leukocyte adherence to venular endothelium during ischemia-reperfusion. *Am.J.Physiol.* 257 (1989) S. G683 - G688
65. Grisham, M. B., Hernandez, L. A., and Granger, D. N. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am.J.Physiol.* 251 (1986) S. G567 - G574
66. Halvorsen, L., Roth, R., Gunther, R. A., Firoozmand, E., Buoncristiani, A. M., and Kramer, G. C. Liver hemodynamics during portal venous endotoxemia in swine. *Circ.Shock.* 41 (1993) S. 166 - 175
67. Hansen, T. N., Dawson, P. E., and Brockbank, K. G. Effects of hypothermia upon endothelial cells: mechanisms and clinical importance. *Cryobiology*. 31 (1994) S. 101 - 106

68. Harada, H., Wakabayashi, G., Takayanagi, A., Shimazu, M., Matsumoto, K., Obara, H., Shimizu, N., and Kitajima, M. Transfer of the interleukin-1 receptor antagonist gene into rat liver abrogates hepatic ischemia-reperfusion injury. *Transplantation*. 74 (2002) S. 1434 - 1441
69. Hasuike, Y., Monden, M., Valdivia, L. A., Kubota, N., Gotoh, M., Nakano, Y., Okamura, J., and Mori, T. A simple method for orthotopic liver transplantation with arterial reconstruction in rats. *Transplantation*. 45 (1988) S. 830 - 832
70. Haussinger, D. The role of cellular hydration in the regulation of cell function. *Biochem.J.* 313 ( Pt 3) (1996) S. 697 - 710
71. Hautekeete, M. L. and Geerts, A. The hepatic stellate (Ito) cell: its role in human liver disease. *Virchows Arch.* 430 (1997) S. 195 - 207
72. He, X. S., Ma, Y., Wu, L. W., Ju, W. Q., Chen, G. H., Hu, R. D., and Huang, J. F. Influence of warm ischemia injury on hepatic functional status and survival of liver graft in rats. *Hepatobiliary.Pancreat.Dis.Int.* 2 (2003) S. 504 - 508
73. Heidenhain, C., Heise, M., Jonas, S., Ben Asseur, M., Puhl, G., Mittler, J., Thelen, A., Schmidt, S., Langrehr, J., and Neuhaus, P. Retrograde reperfusion via vena cava lowers the risk of initial nonfunction but increases the risk of ischemic-type biliary lesions in liver transplantation--a randomized clinical trial. *Transpl.Int.* 19 (2006) S. 738 - 748
74. Hernandez, L. A., Grisham, M. B., Twohig, B., Arfors, K. E., Harlan, J. M., and Granger, D. N. Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. *Am.J.Physiol.* 253 (1987) S. H699 - H703
75. Hisanaga, M., Nakajima, Y., Wada, T., Kanehiro, H., Fukuoka, T., Horikawa, M., Yoshimura, A., Kido, K., Taki, J., Aomatsu, Y., and . Protective effect of the calcium channel blocker diltiazem on hepatic function following warm ischemia. *J.Surg.Res.* 55 (1993) S. 404 - 410
76. Hoffmann, K., Weigand, M. A., Hillebrand, N., Buchler, M. W., Schmidt, J., and Schemmer, P. Is veno-venous bypass still needed during liver transplantation? A review of the literature. *Clin.Transplant.* 23 (2009) S. 1 - 8
77. Holscher, M. and Groenewoud, A. F. Current status of the HTK solution of Bretschneider in organ preservation. *Transplant.Proc.* 23 (1991) S. 2334 - 2337
78. Honda, M., Yamada, T., Nomura, T., Miki, Y., Kanda, S., Seki, A., and Sasaki, J. Differential, histochemical and immunohistochemical changes in rat hepatocytes after isoflurane or sevoflurane exposure. *Acta Med.Okayama.* 57 (2003) S. 1 - 12

79. Hong, J. C., Yersiz, H., Farmer, D. G., Duffy, J. P., Ghobrial, R. M., Nonthasoot, B., Collins, T. E., Hiatt, J. R., and Busuttil, R. W. Longterm outcomes for whole and segmental liver grafts in adult and pediatric liver transplant recipients: a 10-year comparative analysis of 2,988 cases. *J.Am.Coll.Surg.* 208 (2009) S. 682 - 689
80. Howard, T. K., Klintmalm, G. B., Cofer, J. B., Husberg, B. S., Goldstein, R. M., and Gonwa, T. A. The influence of preservation injury on rejection in the hepatic transplant recipient. *Transplantation.* 49 (1990) S. 103 - 107
81. Huser, N., Doll, D., Altomonte, J., Werner, M., Kriner, M., Preissel, A., Thorban, S., and Matevossian, E. Graft preconditioning with low-dose tacrolimus (FK506) and nitric oxide inhibitor aminoguanidine (AGH) reduces ischemia/reperfusion injury after liver transplantation in the rat. *Arch.Pharm.Res.* 32 (2009) S. 215 - 220
82. Imai, M., Kon, S., and Inaba, H. Effects of halothane, isoflurane and sevoflurane on ischemia-reperfusion injury in the perfused liver of fasted rats. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 40 (1996) S. 1242 - 1248
83. Jaeschke, H. and Farhood, A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am.J.Physiol.* 260 (1991) S. G355 - G362
84. Jaeschke, H., Farhood, A., Bautista, A. P., Spolarics, Z., Spitzer, J. J., and Smith, C. W. Functional inactivation of neutrophils with a Mac-1 (CD11b/CD18) monoclonal antibody protects against ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Hepatology.* 17 (1993) S. 915 - 923
85. Jaeschke, H., Farhood, A., and Smith, C. W. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *FASEB J.* 4 (1990) S. 3355 - 3359
86. Jaeschke, H., Smith, C. W., Clemens, M. G., Ganey, P. E., and Roth, R. A. Mechanisms of inflammatory liver injury: adhesion molecules and cytotoxicity of neutrophils. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 139 (1996) S. 213 - 226
87. Jakab, F., Zavodszky, Z., Sugar, I., Zaborszky, A., Rath, Z., Metzger, P., and Ughy, T. Changes in pH and acid-base equilibrium during experimental liver transplantation by active and passive veno-venous bypass. *Acta Chir Hung.* 29 (1988) S. 107 - 116
88. Jovine, E., Mazziotti, A., Grazi, G. L., Ercolani, G., Masetti, M., Morganti, M., Pierangeli, F., Begliomini, B., Mazzetti, P. G., Rossi, R., Paladini, R., and Cavallari, A. Piggy-back versus conventional technique in liver transplantation: report of a randomized trial. *Transpl.Int.* 10 (1997) S. 109 - 112

89. Junqueira, L. C. U and Carneiro, J. Leber. In:"Histologie", Gratzl, M (Hrsg.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, (2005) 6.Auflage, S.274-281
90. Kaizu, T., Nakao, A., Tsung, A., Toyokawa, H., Sahai, R., Geller, D. A., and Murase, N. Carbon monoxide inhalation ameliorates cold ischemia/reperfusion injury after rat liver transplantation. *Surgery*. 138 (2005) S. 229 - 235
91. Kalayoglu, M., Sollinger, H. W., Stratta, R. J., D'Alessandro, A. M., Hoffmann, R. M., Pirsch, J. D., and Belzer, F. O. Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet*. 1 (1988) S. 617 - 619
92. Kamada, N. and Calne, R. Y. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation*. 28 (1979) S. 47 - 50
93. Kamiike, W., Burdelski, M., Steinhoff, G., Ringe, B., Lauchart, W., and Pichlmayr, R. Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver transplantation. *Transplantation*. 45 (1988) S. 138 - 143
94. Kaneda, K., Kurioka, N., Seki, S., Wake, K., and Yamamoto, S. Pit cell-hepatocyte contact in autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 4 (1984) S. 955 - 958
95. Karwinski, W., Husoy, A. M., Farstad, M., and Soreide, O. Sixty minutes of normothermic ischemia in the rat liver: correlation between adenine nucleotides and bile excretion. *J.Surg.Res.* 46 (1989) S. 99 - 103
96. Kataoka, M., Shimizu, H., Mitsuhashi, N., Ohtsuka, M., Wakabayashi, Y., Ito, H., Kimura, F., Nakagawa, K., Yoshidome, H., Shimizu, Y., and Miyazaki, M. Effect of cold-ischemia time on C-X-C chemokine expression and neutrophil accumulation in the graft liver after orthotopic liver transplantation in rats. *Transplantation*. 73 (2002) S. 1730 - 1735
97. Kehrer, J. P., Jones, D. P., Lemasters, J. J., Farber, J. L., and Jaeschke, H. Mechanisms of hypoxic cell injury. Summary of the symposium presented at the 1990 annual meeting of the Society of Toxicology. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 106 (1990) S. 165 - 178
98. Kern, H., Bald, C., Brill, T., Fend, F., von Weiher, C. H., Kriner, M., Huser, N., Thorban, S., Stangl, M., and Matevossian, E. The influence of retrograde reperfusion on the ischaemia-/reperfusion injury after liver transplantation in the rat. *Int.J.Exp.Pathol.* 89 (2008) S. 433 - 437

99. Khosravi, M. B., Jalaeian, H., Lahsaei, M., Ghaffaripour, S., Salahi, H., Bahador, A., Nikeghbalian, S., Davari, H. R., Salehipour, M., Kazemi, K., Nejatollahi, S. M., Shokrizadeh, S., Gholami, S., and Malek-Hosseini, S. A. The effect of clamping of inferior vena cava and portal vein on urine output during liver transplantation. *Transplant.Proc.* 39 (2007) S. 1197 - 1198
100. Kihara, K., Ueno, S., Sakoda, M., and Aikou, T. Effects of hyperbaric oxygen exposure on experimental hepatic ischemia reperfusion injury: relationship between its timing and neutrophil sequestration. *Liver Transpl.* 11 (2005) S. 1574 - 1580
101. Kniepeiss, D., Iberer, F., Grasser, B., Schaffellner, S., Stadlbauer, V., and Tscheliessnigg, K. H. A single-center experience with retrograde reperfusion in liver transplantation. *Transpl.Int.* 16 (2003) S. 730 - 735
102. Knox, C. D., Pierce, J. M., Nicoud, I. B., Belous, A. E., Jones, C. M., Anderson, C. D., and Chari, R. S. Inhibition of phospholipase C attenuates liver mitochondrial calcium overload following cold ischemia. *Transplantation.* 81 (2006) S. 567 - 572
103. Kon, S., Imai, M., and Inaba, H. Isoflurane attenuates early neutrophil-independent hypoxia-reoxygenation injuries in the reperfused liver in fasted rats. *Anesthesiology.* 86 (1997) S. 128 - 136
104. Kraft, W., Dürr, U. M., Bostedt, H., Heinritzi, K., and Füll, M. Leber. In: "Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin", Kraft, W. and Dürr, U. M. (Hrsg.), Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, (2005) S.145-167
105. Kurokawa, T., Nonami, T., Harada, A., Nakao, A., and Takagi, H. Mechanism and prevention of ischemia-reperfusion injury of the liver. *Semin.Surg.Oncol.* 12 (1996) S. 179 - 182
106. Kurokawa, T. and Takagi, H. Mechanism and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Transplant.Proc.* 31 (1999) S. 1775 - 1776
107. Lamers, W. H., Hilberts, A., Furt, E., Smith, J., Jonges, G. N., van Noorden, C. J., Janzen, J. W., Charles, R., and Moorman, A. F. Hepatic enzymic zonation: a reevaluation of the concept of the liver acinus. *Hepatology.* 10 (1989) S. 72 - 76
108. Le Moine, O., Louis, H., Stordeur, P., Collet, J. M., Goldman, M., and Deviere, J. Role of reactive oxygen intermediates in interleukin 10 release after cold liver ischemia and reperfusion in mice. *Gastroenterology.* 113 (1997) S. 1701 - 1706
109. Leaf, A. Cell swelling. A factor in ischemic tissue injury. *Circulation.* 48 (1973) S. 455 - 458

110. Lee, S., Charters, A. C., Chandler, J. G., and Orloff, M. J. A technique for orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation*. 16 (1973) S. 664 - 669
111. Lee, S., Charters, A. C., III, and Orloff, M. J. Simplified technic for orthotopic liver transplantation in the rat. *Am.J.Surg.* 130 (1975) S. 38 - 40
112. Lehmann, T. G., Wheeler, M. D., Schoonhoven, R., Bunzendahl, H., Samulski, R. J., and Thurman, R. G. Delivery of Cu/Zn-superoxide dismutase genes with a viral vector minimizes liver injury and improves survival after liver transplantation in the rat. *Transplantation*. 69 (2000) S. 1051 - 1057
113. Lemasters, J. J., DiGuseppi, J., Nieminen, A. L., and Herman, B. Blebbing, free Ca<sup>2+</sup> and mitochondrial membrane potential preceding cell death in hepatocytes. *Nature*. 325 (1987) S. 78 - 81
114. Lerut, J., Gertsch, P., and Blumgart, L. H. "Piggy back" adult orthotopic liver transplantation. *Helv.Chir Acta*. 56 (1989) S. 527 - 530
115. Lerut, J. P., Molle, G., Donataccio, M., De Kock, M., Ciccarelli, O., Laterre, P. F., Van, Leeuw, V, Bourlier, P., de Ville, de Goyet, Reding, R., Gibbs, P., and Otte, J. B. Cavocaval liver transplantation without venovenous bypass and without temporary portocaval shunting: the ideal technique for adult liver grafting? *Transpl.Int.* 10 (1997) S. 171 - 179
116. Lindert, K. A., Caldwell-Kenkel, J. C., Nukina, S., Lemasters, J. J., and Thurman, R. G. Activation of Kupffer cells on reperfusion following hypoxia: particle phagocytosis in a low-flow, reflow model. *Am.J.Physiol.* 262 (1992) S. G345 - G350
117. Liu, L. U., Schiano, T. D., Min, A. D., Kim-Schluger, L., Schwartz, M. E., Emre, S., Fishbein, T. M., Bodenheimer, H. C., Jr., and Miller, C. M. Syngeneic living-donor liver transplantation without the use of immunosuppression. *Gastroenterology*. 123 (2002) S. 1341 - 1345
118. Liu, Z. J., Li, S. W., Li, X. H., Peng, Y., You, H. B., Li, S. B., and Gong, J. P. [The influence with block the endotoxin signal transduction for ischemia/reperfusion injury of graft liver in rats]. *Sichuan.Da.Xue.Xue.Bao.Yi.Xue.Ban.* 37 (2006) S. 679 - 682
119. Marubayashi, S., Oshiro, Y., Maeda, T., Fukuma, K., Okada, K., Hinoi, T., Ikeda, M., Yamada, K., Itoh, H., and Dohi, K. Protective effect of monoclonal antibodies to adhesion molecules on rat liver ischemia-reperfusion injury. *Surgery*. 122 (1997) S. 45 - 52
120. Marzi, I., Zhi, Z. N., Zimmermann, F. A., Lemasters, J. J., and Thurman, R. G. Xanthine and hypoxanthine accumulation during storage may contribute to reperfusion injury following liver transplantation in the rat. *Transplant.Proc.* 21 (1989) S. 1319 - 1320

121. Matevossian, E., Huser, N., Kern, H., Assfalg, V., Preissel, A., Sinicina, I., Stangl, M., and Thorban, S. Nitric oxide inhibition and consecutive Aspisol application show a prolonged survival of orthotopic transplanted livers in a rat model. *Transplant.Proc.* 40 (2008) S. 971 - 973
122. Matevossian, E., Novotny, A., Knebel, C., Brill, T., Werner, M., Sinicina, I., Kriner, M., Stangl, M., Thorban, S., and Huser, N. The effect of selective inhibition of inducible nitric oxide synthase on cytochrome P450 after liver transplantation in a rat model. *Transplant.Proc.* 40 (2008) S. 983 - 985
123. McCord, J. M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N.Engl.J.Med.* 312 (1985) S. 159 - 163
124. McCuskey, R. S. A dynamic and static study of hepatic arterioles and hepatic sphincters. *Am.J.Anat.* 119 (1966) S. 455 - 477
125. McKeown, C. M., Edwards, V., Phillips, M. J., Harvey, P. R., Petrunka, C. N., and Strasberg, S. M. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation.* 46 (1988) S. 178 - 191
126. Menger, M. D., Pelikan, S., Steiner, D., and Messmer, K. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "reflow paradox". *Am.J.Physiol.* 263 (1992) S. H1901 - H1906
127. Menger, M. D., Richter, S., Yamauchi, J., and Vollmar, B. Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatogastroenterology.* 46 Suppl 2 (1999) S. 1452 - 1457
128. Menger, M. D., Sack, F. U., Barker, J. H., Feifel, G., and Messmer, K. Quantitative analysis of microcirculatory disorders after prolonged ischemia in skeletal muscle. Therapeutic effects of prophylactic isovolemic hemodilution. *Res.Exp.Med.(Berl).* 188 (1988) S. 151 - 165
129. Menger, M. D., Steiner, D., and Messmer, K. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "no reflow". *Am.J.Physiol.* 263 (1992) S. H1892 - H1900
130. Meunier, B., Bardaxoglou, E., Chareton, B., Landen, S., Camus, C., Roumeas, J., and Launois, B. ["Piggyback" method in hepatic transplantation]. *Chirurgie.* 119 (1993) S. 682 - 685
131. Minor, T., Akbar, S., Tolba, R., and Dombrowski, F. Cold preservation of fatty liver grafts: prevention of functional and ultrastructural impairments by venous oxygen persufflation. *J.Hepatol.* 32 (2000) S. 105 - 111

132. Miyata, M., Fischer, J. H., Fuhs, M., Isselhard, W., and Kasai, Y. A simple method for orthotopic liver transplantation in the rat. Cuff technique for three vascular anastomoses. *Transplantation*. 30 (1980) S. 335 - 338
133. Moore, E. E., Cogbill, T. H., Jurkovich, G. J., Shackford, S. R., Malangoni, M. A., and Champion, H. R. Organ injury scaling: spleen and liver (1994 revision). *J.Trauma*. 38 (1995) S. 323 - 324
134. Mor, E., Klintmalm, G. B., Gonwa, T. A., Solomon, H., Holman, M. J., Gibbs, J. F., Watemberg, I., Goldstein, R. M., and Husberg, B. S. The use of marginal donors for liver transplantation. A retrospective study of 365 liver donors. *Transplantation*. 53 (1992) S. 383 - 386
135. Mueller, A. R., Platz, K. P., Haak, M., Undi, H., Muller, C., Kottgen, E., Weidemann, H., and Neuhaus, P. The release of cytokines, adhesion molecules, and extracellular matrix parameters during and after reperfusion in human liver transplantation. *Transplantation*. 62 (1996) S. 1118 - 1126
136. Nadig, S. N., Periyasamy, B., Shafizadeh, S. F., Polito, C., Fiorini, R. N., Rodwell, D., Evans, Z., Cheng, G., Dunkelberger, D., Schmidt, M., Self, S. E., and Chavin, K. D. Hepatocellular ultrastructure after ischemia/reperfusion injury in human orthotopic liver transplantation. *J.Gastrointest.Surg*. 8 (2004) S. 695 - 700
137. Nagrath, D., Xu, H., Tanimura, Y., Zuo, R., Berthiaume, F., Avila, M., Yarmush, R., and Yarmush, M. L. Metabolic preconditioning of donor organs: Defatting fatty livers by normothermic perfusion ex vivo. *Metab Eng*. (2009)
138. NAKATA, K., LEONG, G. F., and BRAUER, R. W. Direct measurement of blood pressures in minute vessels of the liver. *Am.J.Physiol*. 199 (1960) S. 1181 - 1188
139. Nakatani, K., Kaneda, K., Seki, S., and Nakajima, Y. Pit cells as liver-associated natural killer cells: morphology and function. *Med.Electron Microsc*. 37 (2004) S. 29 - 36
140. Nakayama, S., Kramer, G. C., Carlsen, R. C., and Holcroft, J. W. Infusion of very hypertonic saline to bled rats: membrane potentials and fluid shifts. *J.Surg.Res*. 38 (1985) S. 180 - 186
141. Natori, S., Fujii, Y., Kurosawa, H., Nakano, A., and Shimada, H. Prostaglandin E1 protects against ischemia-reperfusion injury of the liver by inhibition of neutrophil adherence to endothelial cells. *Transplantation*. 64 (1997) S. 1514 - 1520
142. Neuberger, J. Incidence, timing, and risk factors for acute and chronic rejection. *Liver Transpl.Surg*. 5 (1999) S. S30 - S36

143. Neuhaus, P., Blumhardt, G., Bechstein, W. O., Steffen, R., Platz, K. P., and Keck, H. Technique and results of biliary reconstruction using side-to-side choledochocholedochostomy in 300 orthotopic liver transplants. *Ann.Surg.* 219 (1994) S. 426 - 434
144. Nickkholgh, A., Weitz, J., Encke, J., Sauer, P., Mehrabi, A., Buchler, M. W., Schmidt, J., and Schemmer, P. Utilization of extended donor criteria in liver transplantation: a comprehensive review of the literature. *Nephrol.Dial.Transplant.* 22 Suppl 8 (2007) S. viii29 - viii36
145. Nikeghbalian, S., Dehghani, M., Salahi, H., Bahador, A., Kazemi, K., Kakaei, F., Rajaei, E., Gholami, S., and Malek-Hosseini, S. A. Effects of surgical technique on postoperative renal function after orthotopic liver transplant. *Exp.Clin.Transplant.* 7 (2009) S. 25 - 27
146. Nishimura, Y., Takei, Y., Kawano, S., Goto, M., Nagano, K., Tsuji, S., Nagai, H., Ohmae, A., Fusamoto, H., and Kamada, T. The F(ab')<sub>2</sub> fragment of an anti-ICAM-1 monoclonal antibody attenuates liver injury after orthotopic liver transplantation. *Transplantation.* 61 (1996) S. 99 - 104
147. Noujaim, H. M., de Ville, de Goyet, Montero, E. F., Ribeiro, C. M., Capellozzi, V. L., Crescentini, F., Casagrande, M., Santos, R. G., Curvello, L., de Miranda, M. P., and Genzini, T. Expanding postmortem donor pool using steatotic liver grafts: a new look. *Transplantation.* 87 (2009) S. 919 - 925
148. Oda, M., Han, J. Y., and Yokomori, H. Local regulators of hepatic sinusoidal microcirculation: recent advances. *Clin.Hemorheol.Microcirc.* 23 (2000) S. 85 - 94
149. Oda, M., Yokomori, H., and Han, J. Y. Regulatory mechanisms of hepatic microcirculation. *Clin.Hemorheol.Microcirc.* 29 (2003) S. 167 - 182
150. Olschewski, P., Hunold, G., Eipel, C., Neumann, U., Schoning, W., Schmitz, V., Vollmar, B., Neuhaus, P., and Puhl, G. Improved microcirculation by low-viscosity histidine- tryptophan-ketoglutarate graft flush and subsequent cold storage in University of Wisconsin solution: results of an orthotopic rat liver transplantation model. *Transpl.Int.* 21 (2008) S. 1175 - 1180
151. Pardini, R. S. Toxicity of oxygen from naturally occurring redox-active pro-oxidants. *Arch.Insect Biochem.Physiol.* 29 (1995) S. 101 - 118
152. Park, K., Chung, K. Y., Sung, S. H., Kim, B. R., and Kim, Y. S. Protective effect of desferrioxamine during canine liver transplantation: significance of peritransplant liver biopsy. *Transplant.Proc.* 35 (2003) S. 117 - 119

153. Patel, V. F., Hardin, J. N., Mastro, J. M., Law, K. L., Zimmermann, J. L., Ehlhardt, W. J., Woodland, J. M., and Starling, J. J. Novel acid labile COL1 trityl-linked difluoronucleoside immunoconjugates: synthesis, characterization, and biological activity. *Bioconjug.Chem.* 7 (1996) S. 497 - 510
154. Petrides, P. E. Blut, Hämoglobin. In:"Biochemie & Pathobiochemie", Löffler, G and Petrides, P. E. (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Honkong, London, Mailand, Paris, Tokio, (2003) S.990-999
155. Pfitzmann, R., Nussler, N. C., Hippler-Benscheidt, M., Neuhaus, R., and Neuhaus, P. Long-term results after liver transplantation. *Transpl.Int.* 21 (2008) S. 234 - 246
156. Pichlmayr, R. [Liver transplantation. The Hannover experience]. *Chirurgie.* 117 (1991) S. 225 - 229
157. Pichlmayr, R., Brolsch, C., Wonigeit, K., Neuhaus, P., Siegismund, S., Schmidt, F. W., and Burdelski, M. Experiences with liver transplantation in Hannover. *Hepatology.* 4 (1984) S. 56S - 60S
158. Picker, L. J., Warnock, R. A., Burns, A. R., Doerschuk, C. M., Berg, E. L., and Butcher, E. C. The neutrophil selectin LECAM-1 presents carbohydrate ligands to the vascular selectins ELAM-1 and GMP-140. *Cell.* 66 (1991) S. 921 - 933
159. Ploeg, R. J., D'Alessandro, A. M., Knechtle, S. J., Stegall, M. D., Pirsch, J. D., Hoffmann, R. M., Sasaki, T., Sollinger, H. W., Belzer, F. O., and Kalayoglu, M. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation--a multivariate analysis. *Transplantation.* 55 (1993) S. 807 - 813
160. Pober, J. S. Activation and injury of endothelial cells by cytokines. *Pathol.Biol.(Paris).* 46 (1998) S. 159 - 163
161. Porte, R. J., Ploeg, R. J., Hansen, B., van Bockel, J. H., Thorogood, J., Persijn, G. G., Hermans, J., and Terpstra, O. T. Long-term graft survival after liver transplantation in the UW era: late effects of cold ischemia and primary dysfunction. European Multicentre Study Group. *Transpl.Int.* 11 Suppl 1 (1998) S. S164 - S167
162. Post, S., Menger, M. D., Rentsch, M., Gonzalez, A. P., Herfarth, C., and Messmer, K. The impact of arterialization on hepatic microcirculation and leukocyte accumulation after liver transplantation in the rat. *Transplantation.* 54 (1992) S. 789 - 794
163. Post, S., Palma, P., Gonzalez, A. P., Rentsch, M., and Menger, M. D. Timing of arterialization in liver transplantation. *Ann.Surg.* 220 (1994) S. 691 - 698

164. Post, S., Palma, P., Rentsch, M., Gonzalez, A. P., and Menger, M. D. Differential impact of Carolina rinse and University of Wisconsin solutions on microcirculation, leukocyte adhesion, Kupffer cell activity and biliary excretion after liver transplantation. *Hepatology*. 18 (1993) S. 1490 - 1497
165. Post, S., Rentsch, M., Gonzalez, A. P., Palma, P., Otto, G., and Menger, M. D. Importance of the first minutes of reperfusion in hepatic preservation injury. *Transplant.Proc.* 27 (1995) S. 727 - 728
166. Post, S., Rentsch, M., Palma, P., Gonzalez, A. P., and Menger, M. D. Assessment of microhemodynamics after liver transplantation by in vivo microscopy in the rat. *Transplant.Proc.* 25 (1993) S. 2597 - 2598
167. Pratschke, S., Loehe, F., Graeb, C., Jauch, K. W., and Angele, M. K. [Usage of marginal organs for liver transplantation: a way around the critical organ shortage?]. *Zentralbl.Chir.* 134 (2009) S. 107 - 112
168. Pugh, R. N., Murray-Lyon, I. M., Dawson, J. L., Pietroni, M. C., and Williams, R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br.J.Surg.* 60 (1973) S. 646 - 649
169. Raison, J. K. The influence of temperature-induced phase changes on the kinetics of respiratory and other membrane-associated enzyme systems. *J.Bioenerg.* 4 (1973) S. 285 - 309
170. Rappaport, A. M. Hepatic blood flow: morphologic aspects and physiologic regulation. *Int.Rev.Physiol.* 21 (1980) S. 1 - 63
171. Raud, J. and Lindbom, L. Leukocyte rolling and firm adhesion in the microcirculation. *Gastroenterology*. 104 (1993) S. 310 - 314
172. Rhodin, J. A. The ultrastructure of mammalian arterioles and precapillary sphincters. *J.Ultrastruct.Res.* 18 (1967) S. 181 - 223
173. Richter, S., Yamauchi, J., Minor, T., Vollmar, B., and Menger, M. D. Effect of warm ischemia time and organ perfusion technique on liver microvascular preservation in a non-heart-beating rat model. *Transplantation*. 69 (2000) S. 20 - 24
174. Ruckert, R. I. [Our surgical heritage. On the history of clinical liver transplantation in Germany]. *Zentralbl.Chir.* 117 (1992) S. 299 - 306
175. Sankary, H. N., McChesney, L., Frye, E., Cohn, S., Foster, P., and Williams, J. A simple modification in operative technique can reduce the incidence of nonanastomotic biliary strictures after orthotopic liver transplantation. *Hepatology*. 21 (1995) S. 63 - 69

176. Sano, K., Nagaki, M., Sugiyama, A., Hatakeyama, H., Ohnishi, H., Muto, Y., and Moriwaki, H. Effects of cytokines on the binding of leukocytes to cultured rat hepatocytes and on the expression of ICAM-1 by hepatocytes. *Dig.Dis.Sci.* 44 (1999) S. 796 - 805
177. Santiago, E., Lopez-Moratalla, N., Lopez-Zabalza, M. J., Iriarte, A. J., and Campo, M. L. Effect of pH on the sensitivity of mitochondrial ATPase to free ATP, ADP and anions. *Rev.Esp.Fisiol.* 36 (1980) S. 413 - 420
178. Schanne, F. A., Kane, A. B., Young, E. E., and Farber, J. L. Calcium dependence of toxic cell death: a final common pathway. *Science.* 206 (1979) S. 700 - 702
179. Schauer, R. J., Bilzer, M., Kalmuk, S., Gerbes, A. L., Leiderer, R., Schildberg, F. W., and Messmer, K. Microcirculatory failure after rat liver transplantation is related to Kupffer cell-derived oxidant stress but not involved in early graft dysfunction. *Transplantation.* 72 (2001) S. 1692 - 1699
180. Schauer, R. J., Kalmuk, S., Gerbes, A. L., Leiderer, R., Meissner, H., Schildberg, F. W., Messmer, K., and Bilzer, M. Intravenous administration of glutathione protects parenchymal and non-parenchymal liver cells against reperfusion injury following rat liver transplantation. *World J.Gastroenterol.* 10 (2004) S. 864 - 870
181. Schemmer, P., Nickkholgh, A., Hinz, U., Gerling, T., Mehrabi, A., Sauer, P., Encke, J., Friess, H., Weitz, J., Buchler, M. W., and Schmidt, J. Extended donor criteria have no negative impact on early outcome after liver transplantation: a single-center multivariate analysis. *Transplant.Proc.* 39 (2007) S. 529 - 534
182. Schemmer, P., Schoonhoven, R., Swenberg, J. A., Bunzendahl, H., and Thurman, R. G. Gentle in situ liver manipulation during organ harvest decreases survival after rat liver transplantation: role of Kupffer cells. *Transplantation.* 65 (1998) S. 1015 - 1020
183. Schlitt, H. J., Loss, M., Scherer, M. N., Becker, T., Jauch, K. W., Nashan, B., Schmidt, H., Settmacher, U., Rogiers, X., Neuhaus, P., and Strassburg, C. [Current developments in liver transplantation in Germany: MELD-based organ allocation and incentives for transplant centres]. *Z.Gastroenterol.* 49 (2011) S. 30 - 38
184. Schmidt, E. and Schmidt, F. W. [Functional morphology of the liver]. *Z.Gastroenterol.Verh.* 22 (1987) S. 16 - 38
185. Schmidt, R., Hoetzel, A., Baechle, T., Loop, T., Humar, M., Bauer, M., Pahl, H. L., Geiger, K. K., and Pannen, B. H. Isoflurane pretreatment lowers portal venous resistance by increasing hepatic heme oxygenase activity in the rat liver in vivo. *J.Hepatol.* 41 (2004) S. 706 - 713

186. Schmidt, R., Tritschler, E., Hoetzel, A., Loop, T., Humar, M., Halverscheid, L., Geiger, K. K., and Pannen, B. H. Heme oxygenase-1 induction by the clinically used anesthetic isoflurane protects rat livers from ischemia/reperfusion injury. *Ann.Surg.* 245 (2007) S. 931 - 942
187. Schon, M. R., Hunt, C. J., Pegg, D. E., and Wight, D. G. The possibility of resuscitating livers after warm ischemic injury. *Transplantation.* 56 (1993) S. 24 - 31
188. Schrem, H., Till, N., Becker, T., Bektas, H., Manns, M. P., Strassburg, C. P., and Klempnauer, J. [Long-term results after liver transplantation]. *Chirurg.* 79 (2008) S. 121 - 129
189. Schutz, E., Wieland, E., Hensel, A., Niedmann, P. D., Dreiss, A., Armstrong, V. W., Schuff-Werner, P., and Oellerich, M. Suppression of leukocyte-enhanced cold ischemia/reperfusion injury of liver endothelium with the benzoquinone antioxidant idebenone. *Clin.Biochem.* 30 (1997) S. 619 - 624
190. Schwarz, B., Pomaroli, A., Hoermann, C., Margreiter, R., and Mair, P. Liver transplantation without venovenous bypass: morbidity and mortality in patients with greater than 50% reduction in cardiac output after vena cava clamping. *J.CardiThorac.Vasc.Anesth.* 15 (2001) S. 460 - 462
191. Selzner, N., Rudiger, H., Graf, R., and Clavien, P. A. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology.* 125 (2003) S. 917 - 936
192. Selzner, N., Selzner, M., Jochum, W., and Clavien, P. A. Ischemic preconditioning protects the steatotic mouse liver against reperfusion injury: an ATP dependent mechanism. *J.Hepatol.* 39 (2003) S. 55 - 61
193. Settaf, A., Gugenheim, J., Houssin, D., and Bismuth, H. Cuff technique for orthotopic liver transplantation in the rat. A simplified method for the suprahepatic vena cava anastomosis. *Transplantation.* 42 (1986) S. 330 - 331
194. Shen, X. D., Ke, B., Zhai, Y., Gao, F., Tsuchihashi, S., Lassman, C. R., Busuttill, R. W., and Kupiec-Weglinski, J. W. Absence of toll-like receptor 4 (TLR4) signaling in the donor organ reduces ischemia and reperfusion injury in a murine liver transplantation model. *Liver Transpl.* 13 (2007) S. 1435 - 1443
195. Shibuya, H., Ohkohchi, N., Seya, K., and Satomi, S. Kupffer cells generate superoxide anions and modulate reperfusion injury in rat livers after cold preservation. *Hepatology.* 25 (1997) S. 356 - 360
196. Shibuya, H., Ohkohchi, N., Tsukamoto, S., and Satomi, S. Tumor necrosis factor-induced, superoxide-mediated neutrophil accumulation in cold ischemic/reperfused rat liver. *Hepatology.* 26 (1997) S. 113 - 120

197. Shu, Z., Jung, M., Beger, H. G., Marzinzig, M., Han, F., Butzer, U., Bruckner, U. B., and Nussler, A. K. pH-dependent changes of nitric oxide, peroxynitrite, and reactive oxygen species in hepatocellular damage. *Am.J.Physiol.* 273 (1997) S. G1118 - G1126
198. Silberhumer, G. R., Pokorny, H., Hetz, H., Herkner, H., Rasoul-Rockenschaub, S., Soliman, T., Wekerle, T., Berlakovich, G. A., Steininger, R., and Muehlbacher, F. Combination of extended donor criteria and changes in the Model for End-Stage Liver Disease score predict patient survival and primary dysfunction in liver transplantation: a retrospective analysis. *Transplantation.* 83 (2007) S. 588 - 592
199. Sorrentino, D., Van Ness, K., Ribeiro, I., and Miller, C. M. Functional and morphological features of isolated hepatocytes preserved in University of Wisconsin solution. *Hepatology.* 14 (1991) S. 331 - 339
200. Sotiropoulos, G. C., Kaiser, G. M., Lang, H., Molmenti, E. P., Beckebaum, S., Fouzas, I., Sgourakis, G., Radtke, A., Bockhorn, M., Nadalin, S., Treckmann, J., Niebel, W., Baba, H. A., Broelsch, C. E., and Paul, A. Liver transplantation as a primary indication for intrahepatic cholangiocarcinoma: a single-center experience. *Transplant.Proc.* 40 (2008) S. 3194 - 3195
201. Southard, J. H. and Belzer, F. O. Organ preservation. *Annu.Rev.Med.* 46 (1995) S. 235 - 247
202. Spiegel, H. U., Schleimer, K., Freise, H., Diller, R., Drews, G., and Kranz, D. Organ preservation with EC, HTK, and UW, solution in orthotopic rat liver transplantation. Part II. Morphological study. *J.Invest Surg.* 12 (1999) S. 195 - 203
203. Spiegel, H. U., Schleimer, K., Kranz, D., and Oldhafer, K. J. Organ preservation with EC, HTK, and UW solutions in orthotopic liver transplantation in syngeneic rats. Part I: Functional parameters. *J.Invest Surg.* 11 (1998) S. 49 - 56
204. Starzl, T. E. and Demetris, A. J. Liver transplantation: a 31-year perspective. Part I. *Curr.Probl.Surg.* 27 (1990) S. 49 - 116
205. Starzl, T. E. and Demetris, A. J. Liver transplantation: a 31-year perspective. Part II. *Curr.Probl.Surg.* 27 (1990) S. 117 - 178
206. Starzl, T. E. and Demetris, A. J. Liver transplantation: a 31-year perspective. Part III. *Curr.Probl.Surg.* 27 (1990) S. 181 - 240
207. Starzl, T. E., Marchioro, T. L., VONKAULLA, K. N., HERMANN, G., BRITAIN, R. S., and Waddell, W. R. HOMOTRANSPLANTATION OF THE LIVER IN HUMANS. *Surg.Gynecol.Obstet.* 117 (1963) S. 659 - 676

208. Steffen, R., Ferguson, D. M., and Krom, R. A. A new method for orthotopic rat liver transplantation with arterial cuff anastomosis to the recipient common hepatic artery. *Transplantation*. 48 (1989) S. 166 - 168
209. Steinhoff, G., Behrend, M., and Wonigeit, K. Expression of adhesion molecules on lymphocytes/monocytes and hepatocytes in human liver grafts. *Hum.Immunol.* 28 (1990) S. 123 - 127
210. Stirpe, F. and Della, Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J.Biol.Chem.* 244 (1969) S. 3855 - 3863
211. Straatsburg, I. H., Abrahamse, S. L., Song, S. W., Hartman, R. J., and van Gulik, T. M. Evaluation of rat liver apoptotic and necrotic cell death after cold storage using UW, HTK, and Celsior. *Transplantation*. 74 (2002) S. 458 - 464
212. Strassburg, C. P. and Manns, M. P. [Liver transplantation: indications and results]. *Internist (Berl)*. 50 (2009) S. 550 - 560
213. Strieter, R. M., Remick, D. G., Ward, P. A., Spengler, R. N., Lynch, J. P., III, Larrick, J., and Kunkel, S. L. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor-alpha production by pentoxifylline. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 155 (1988) S. 1230 - 1236
214. Takei, Y., Marzi, I., Gao, W. S., Gores, G. J., Lemasters, J. J., and Thurman, R. G. Leukocyte adhesion and cell death following orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation*. 51 (1991) S. 959 - 965
215. Thiel, M., Imendorffer, S., Chouker, A., Groh, J., Briegel, J., Anthuber, M., Kramling, H. J., Arfors, K. E., Peter, K., and Messmer, K. Expression of adhesion molecules on circulating polymorphonuclear leukocytes during orthotopic liver transplantation. *Hepatology*. 28 (1998) S. 1538 - 1550
216. Tomasdottir, H., Bengtson, J. P., and Bengtsson, A. Neutrophil and macrophage activation and anaphylatoxin formation in orthotopic liver transplantation without the use of veno-venous bypass. *Acta Anaesthesiol.Scand.* 40 (1996) S. 250 - 255
217. Torres-Quevedo, R., Moya-Herraiz, A., San Juan, F., Lopez-Andujar, R., Montalva, E., Pareja, E., De Juan, M., Vila, J. J., Aguilera, V., Pina, R., Berenguer, M., Prieto, M., and Mir, J. Indications for and results of liver retransplantation. *Transplant.Proc.* 41 (2009) S. 1016 - 1017
218. Totsuka, E., Dodson, F., Urakami, A., Moras, N., Ishii, T., Lee, M. C., Gutierrez, J., Gerardo, M., Molmenti, E., and Fung, J. J. Influence of high donor serum sodium levels on early postoperative graft function in human liver transplantation: effect of correction of donor hypernatremia. *Liver Transpl.Surg.* 5 (1999) S. 421 - 428

219. Tsuchimoto, S., Kusumoto, K., Nakajima, Y., Kakita, A., Uchino, J., Natori, T., and Aizawa, M. Orthotopic liver transplantation in the rat. A simplified technique using the cuff method for suprahepatic vena cava anastomosis. *Transplantation*. 45 (1988) S. 1153 - 1155
220. Uhlmann, D., Uhlmann, S., and Spiegel, H. U. Important role for endothelins in acute hepatic ischemia/reperfusion injury. *J.Invest Surg*. 14 (2001) S. 31 - 45
221. Urata, K., Brault, A., Rocheleau, B., and Huet, P. M. Role of Kupffer cells in the survival after rat liver transplantation with long portal vein clamping times. *Transpl.Int*. 13 (2000) S. 420 - 427
222. Van As, A. B., Foroutan, H. R., Lotz, Z., Tyler, M., Millar, A. J., and Kahn, D. Ischaemic preconditioning of the liver before transplantation. *S.Afr.J.Surg*. 45 (2007) S. 122 - 4, 126
223. Varani, J., Ginsburg, I., Schuger, L., Gibbs, D. F., Bromberg, J., Johnson, K. J., Ryan, U. S., and Ward, P. A. Endothelial cell killing by neutrophils. Synergistic interaction of oxygen products and proteases. *Am.J.Pathol*. 135 (1989) S. 435 - 438
224. Vauthey, J. N., Duda, P., Wheatley, A. M., and Gertsch, P. Portal hypertension promotes bacterial translocation in rats mono- and non mono-associated with *Escherichia coli* C25. *HPB Surg*. 8 (1994) S. 95 - 100
225. Viebahn, R., de Groot, H., Lauchart, W., and Becker, H. D. [Primary hepatocyte cultures as a model of experimental study of liver preservation]. *Langenbecks Arch.Chir*. 376 (1991) S. 268 - 272
226. Vollmar, B., Glasz, J., Leiderer, R., Post, S., and Menger, M. D. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am.J.Pathol*. 145 (1994) S. 1421 - 1431
227. Vollmar, B., Menger, M. D., Glasz, J., Leiderer, R., and Messmer, K. Impact of leukocyte-endothelial cell interaction in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am.J.Physiol*. 267 (1994) S. G786 - G793
228. Vollmar, B., Richter, S., and Menger, M. D. Leukocyte stasis in hepatic sinusoids. *Am.J.Physiol*. 270 (1996) S. G798 - G803
229. von Andrian, U. H., Chambers, J. D., McEvoy, L. M., Bargatze, R. F., Arfors, K. E., and Butcher, E. C. Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte beta 2 integrins in vivo. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*. 88 (1991) S. 7538 - 7542
230. Waynforth, H. B. *Experimental and surgical technique in the rat* (1980) S. 240 - 244

231. Weigand, M. A., Plachky, J., Thies, J. C., Spies-Martin, D., Otto, G., Martin, E., and Bardenheuer, H. J. N-acetylcysteine attenuates the increase in alpha-glutathione S-transferase and circulating ICAM-1 and VCAM-1 after reperfusion in humans undergoing liver transplantation. *Transplantation*. 72 (2001) S. 694 - 698
232. Weismuller, T. J., Fikatas, P., Schmidt, J., Barreiros, A. P., Otto, G., Beckebaum, S., Paul, A., Scherer, M. N., Schmidt, H. H., Schlitt, H. J., Neuhaus, P., Klempnauer, J., Pratschke, J., Manns, M. P., and Strassburg, C. P. Multicentric evaluation of model for end-stage liver disease-based allocation and survival after liver transplantation in Germany--limitations of the 'sickest first'-concept. *Transpl.Int.* 24 (2011) S. 91 - 99
233. Wesslau, C., Grosse, K., Kruger, R., Kucuk, O., Mauer, D., Nitschke, F. P., Norba, D., Manecke, A., Polster, F., and Gabel, D. How large is the organ donor potential in Germany? Results of an analysis of data collected on deceased with primary and secondary brain damage in intensive care unit from 2002 to 2005. *Transpl.Int.* 20 (2007) S. 147 - 155
234. Winwood, P. J. and Arthur, M. J. Kupffer cells: their activation and role in animal models of liver injury and human liver disease. *Semin.Liver Dis.* 13 (1993) S. 50 - 59
235. Wisse, E. An electron microscopic study of the fenestrated endothelial lining of rat liver sinusoids. *J.Ultrastruct.Res.* 31 (1970) S. 125 - 150
236. Wolff, H. and Otto, G. [Liver transplantation in animal experiments]. *Z.Exp.Chir.* 11 (1978) S. 157 - 176
237. Xu, J., Xie, J., Bao, M., Li, Z., and Yang, Z. NF-kappaB/I-kappaB pathway during ischemia reperfusion injury of rat liver. *Chin Med.J.(Engl.)*. 116 (2003) S. 1146 - 1149
238. Yaylak, F., Canbaz, H., Caglikulekci, M., Dirlik, M., Tamer, L., Ogetman, Z., Polat, Y., Kanik, A., and Aydin, S. Liver tissue inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression and lipid peroxidation in experimental hepatic ischemia reperfusion injury stimulated with lipopolysaccharide: the role of aminoguanidine. *J.Surg.Res.* 148 (2008) S. 214 - 223
239. Ye, S., Dong, J., and Han, B. Protective Effect of Reduced Glutathione and Venous Systemic Oxygen Persufflation on Rat Steatotic Graft Following Liver Transplantation. *J.Surg.Res.* (2009)
240. Yokomori, H., Oda, M., Ogi, M., Yoshimura, K., Nomura, M., Fujimaki, K., Kamegaya, Y., Tsukada, N., and Ishii, H. Endothelin-1 suppresses plasma membrane Ca<sup>++</sup>-ATPase, concomitant with contraction of hepatic sinusoidal endothelial fenestrae. *Am.J.Pathol.* 162 (2003) S. 557 - 566

241. Yokoyama, I., Todo, S., Miyata, T., Selby, R., Tzakis, A. G., and Starzl, T. E. Endotoxemia and human liver transplantation. *Transplant.Proc.* 21 (1989) S. 3833 - 3841
242. Yokoyama, Y., Beckman, J. S., Beckman, T. K., Wheat, J. K., Cash, T. G., Freeman, B. A., and Parks, D. A. Circulating xanthine oxidase: potential mediator of ischemic injury. *Am.J.Physiol.* 258 (1990) S. G564 - G570
243. Zhai, Y., Shen, X. D., Gao, F., Zhao, A., Freitas, M. C., Lassman, C., Luster, A. D., Busuttill, R. W., and Kupiec-Weglinski, J. W. CXCL10 regulates liver innate immune response against ischemia and reperfusion injury. *Hepatology.* 47 (2008) S. 207 - 214
244. Zheyu, C. and Lunan, Y. Early changes of small intestine function in rats after liver transplantation. *Transplant.Proc.* 38 (2006) S. 1564 - 1568
245. Zhou, W., McCollum, M. O., Levine, B. A., and Olson, M. S. Inflammation and platelet-activating factor production during hepatic ischemia/reperfusion. *Hepatology.* 16 (1992) S. 1236 - 1240
246. Zimmermann, F. A., Butcher, G. W., Davies, H. S., Brons, G., Kamada, N., and Turel, O. Techniques for orthotopic liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic responses to fully allogeneic liver grafts. *Transplant.Proc.* 11 (1979) S. 571 - 577

## 10 Danksagung

Zunächst gilt mein Dank meinem Doktorvater und Betreuer Herrn PD Dr.med. E. Matevossian für die Möglichkeit, dieses interessante Thema bearbeiten zu dürfen und für die großzügige Unterstützung während des Lernprozesses der für diese Arbeit notwendigen Methodik. Er lehrte mich das wissenschaftliche Arbeiten und hatte immer ein offenes Ohr bei auftretenden Problemen.

Außerdem möchte ich Herrn Dr. med. H. Kern für die ausgezeichnete Unterstützung bei den Rattenoperationen danken. Ohne seine Hilfe wäre die Durchführung deutlich erschwert gewesen.

Auch möchte ich mich an dieser Stelle bei Herrn Prof. Dr. med. F. Fend und Dr. med. C.W. von Weyhern für die histologische Bearbeitung und Auswertung der Gewebeproben bedanken.

Für die laborchemischen Serumanalysen gilt mein Dank Frau I. Cephea aus dem Institut für klinische Chemie und Pathobiochemie der TU-München

Für die wertvollen Anregungen und die vielfältige Hilfe während der tierexperimentellen Arbeit möchte ich Frau PD Dr. med. vet. J. Henke, sowie Herrn Dr. med. vet. T. Brill ganz herzlich danken.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Zentrums für Präklinische Forschung der TU-München, besonders Frau Härtel und Frau Pohlheimer, möchte ich an dieser Stelle für das angenehme Arbeitsklima und die freundliche Unterstützung danken.

In tiefer Dankbarkeit wende ich mich an meine Eltern und Großeltern, die mir das Studium der Humanmedizin und die Durchführung der vorliegenden Arbeit ermöglichten