

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Chirurgische Klinik und Poliklinik des
Klinikums rechts der Isar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. H. Friess)
und
Institut für präklinische Forschung
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. B. Gänsbacher)

Die Ausprägung des Ischämie-/Reperfusionsschadens nach orthotoper Lebertransplantation mit retrograder Reperfusion im Rattenmodell

Hans Dietrich Kern

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. D. Neumeier
Prüfer der Dissertation:
1. Priv.-Doz. Dr. M.J. Stangl
2. Univ.-Prof. Dr. H. Friess

Diese Dissertation wurde am 24.06.2008 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin
am 22.10.2008 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1	Allgemeiner Teil	4
1.1	Klinische Lebertransplantation	4
1.1.1	Historischer Rückblick	4
1.1.2	Aktueller Stand der Lebertransplantation.....	5
1.1.2.1	Die orthotope Lebertransplantation	5
1.1.2.2	Die heterotope Lebertransplantation.....	5
1.1.2.3	Die Split-Lebertransplantation.....	5
1.1.2.4	Die „Piggy-Back“ Technik	6
1.2	Pathophysiologie des Ischämie-/Reperfusionsschadens.....	8
1.2.1	Primäres Organversagen	8
1.2.2	Der Ischämie-/Reperfusionsschaden	8
1.2.2.1	Einfluss des Ischämie-/Reperfusionsschadens auf Gefäßendothelzellen.....	9
1.2.2.2	Freie Sauerstoffradikale	10
1.2.2.3	Die Rolle der Leukozyten beim Ischämie-/Reperfusionsschaden.....	11
1.2.2.4	Zusammenspiel Proinflammatorischer Mediatoren	11
1.3	Korrelation zwischen Organqualität und Ischämie-/Reperfusionsschaden	13
1.4	Therapieansätze zur Vermeidung des Ischämie-/Reperfusionsschadens	14
1.4.1	Pharmakologische Strategien	14
1.4.1.1	Antioxidantien	14
1.4.1.2	Adenosin und Stickoxid-(NO) Donatoren	15
1.4.1.3	Pentoxifyllin.....	16
1.4.1.4	Prostaglandine.....	16
1.4.2	Gentechnologische Strategien	16
1.4.3	Chirurgische Strategien	17
1.5	Die Rattenlebertransplantation	20
1.5.1	Die Morphologie der Rattenleber.....	20
1.5.1.1	Makroskopische Anatomie	20
1.5.1.2	Lobierung.....	21
1.5.1.3	Gefäßversorgung.....	21
1.5.1.4	Ligamente	22
1.5.1.5	Gallengang und Gallenblase	22
1.5.2	Mikroskopische Anatomie	23
1.5.2.1	Leberläppchen.....	24
1.5.2.2	Portalvenenläppchen.....	25
1.5.2.3	Leberazinus.....	26
1.5.3	Das Gallengangssystem.....	26
1.5.4	Der zelluläre Aufbau der Leber.....	27
1.5.4.1	Hepatozyten	27
1.5.4.2	Kupfferzellen	28
1.5.4.3	Ito-Zellen	28
1.5.4.4	Pit-Zellen	29
1.5.5	Entwicklung der orthotopen Rattenlebertransplantation	29
2	Fragestellung	32

3	Material und Methode	33
3.1	Genehmigung der Tierversuche	33
3.2	Versuchstiere	33
3.3	Versuchsgruppen	34
3.4	Chirurgisches Vorgehen	34
3.4.1	Operationsvorbereitung und Anästhesie	34
3.4.2	Operationstechnik.....	36
3.4.2.1	Präparationsphase der Spenderoperation	36
3.4.2.2	Perfusionsphase und Organkonservierung.....	37
3.4.2.3	Präparationsphase der Empfängeroperation.....	38
3.4.2.4	Einführen eines Splints in die A. hepatica communis.....	38
3.4.2.5	Explantation der Eigenleber.....	39
3.4.2.6	Anastomosierung der suprahepatischen V. cava inferior.....	39
3.4.2.7	Anastomosierung der Pfortader	40
3.4.2.8	Anastomosierung der infrahepatischen V. cava inferior.....	40
3.4.2.9	Wiederherstellung der arteriellen Versorgung.....	40
3.4.2.10	Reperfusion der Transplantatleber.....	40
3.4.2.11	Rekonstruktion des Gallengangs.....	41
3.5	Postoperative Nachsorge	42
3.5.1	Blutentnahmen	42
3.5.2	Sektion.....	42
3.6	Untersuchungsmethoden	42
3.6.1	Intraoperatives Monitoring.....	42
3.6.2	Leberfunktionsparameter.....	43
3.6.2.1	Laborchemische Bestimmungsmethoden	43
3.6.3	Histologie	44
3.7	Statistische Auswertung	45
4	Ergebnisse	52
4.1	Makroskopischer Aspekt nach Reperfusion	52
4.2	Der postoperative Verlauf	52
4.3	Auswertung der Laborparameter	53
4.3.1	GOT.....	53
4.3.2	GPT	55
4.3.3	Bilirubin	57
4.3.4	Alkalische Phosphatase	58
4.3.5	GLDH.....	60
4.4	Auswertung der Histologie	62
4.4.1	Nekrosetypen.....	62
4.4.2	Perivaskuläres Ödem.....	63
4.4.3	Anzahl der Nekroseherde	64
4.4.4	Minimale Größe der Nekroseherde	66
4.4.5	Maximale Größe der Nekroseherde	68
4.4.6	Zonenaufteilung der Nekrosen	70

5	Diskussion	72
5.1	Problematik des I-/R-Schadens bei der Lebertransplantation	72
5.2	Die Ratte als Versuchstier	74
5.3	Vergleich verschiedener Lebertransplantationsmodelle	75
5.4	Intra- und postoperative Komplikationen	77
5.4.1	Komplikationen hervorgerufen durch die Narkose	77
5.4.2	Komplikationen bei der Präparation des Spenders.....	77
5.4.3	Komplikationen bei der Lebertransplantation	78
5.5	Aussagekraft der Laborwerte	79
5.6	Interpretation der Ergebnisse	80
6	Zusammenfassung.....	84
7	Literatur.....	88
8	Abkürzungen	109
9	Danksagung	110
10	Lebenslauf.....	111

1 Allgemeiner Teil

1.1 Klinische Lebertransplantation

1.1.1 Historischer Rückblick

Am 01. März 1963 wurde die weltweit erste klinische Lebertransplantation von *Thomas E. Starzl* in Denver durchgeführt (114). Jedoch blieben dieser, sowie zahlreiche weitere Versuche erfolglos, bis *Starzl* 1967 die erste erfolgreiche Lebertransplantation vornahm. 1968 und 1969 berichteten *Sir Roy Calne* in Cambridge und *A. Güttgemann* in Bonn ebenfalls über gelungene Lebertransplantationen. Nach zunehmender Erfahrung in der klinischen Nierentransplantation und in der experimentellen Lebertransplantation startete *R. Pichlmayr* 1972 ein Transplantationsprogramm für die Lebertransplantation in Hannover (14,15,90,101).

Die Ergebnisse der klinischen Lebertransplantation mit einer Einjahres-Überlebensrate von unter 30% waren jedoch sehr unbefriedigend und wurden bis 1978 im Wesentlichen nur in drei Kliniken kontinuierlich durchgeführt, nämlich in Denver/Pittsburg (*Starzl*), Cambridge (*Calne*) und Hannover (*Pichlmayr*) (116).

Im Laufe der Zeit erlebte die Lebertransplantation eine rasante Aufwärtsentwicklung, die durch folgende Faktoren begründet war:

- Im Jahre 1978 verabreichte *Calne* erstmals Cyclosporin A an Transplantationspatienten, nachdem er in umfangreichen Studien an Hunden eine deutliche Verbesserung der Überlebenszeit nach Nierentransplantation festgestellt hatte (18).
- Eine Verminderung des operativen Risikos konnte durch die Verwendung eines extrakorporalen Bypass-Systems in der anhepatischen Phase sowie der Verbesserung der Gefäß- und Gallenganganastomosierung erreicht werden.
- Durch die Möglichkeit zur Mehrorganentnahme vergrößerte sich die Anzahl der transplantierbaren Organe.
- Die Entwicklung von Organkonservierungslösungen ermöglichte den weiteren Transport von Organen und eine bessere Organqualität bei der Transplantation (56).

- Eine Erweiterung der Operationsindikationen und die Vorverlegung des Operationszeitpunktes verbesserten die postoperative Prognose.

Diese Weiterentwicklungen führten letztendlich zu einer Etablierung der Lebertransplantation als Standardverfahren.

1.1.2 Aktueller Stand der Lebertransplantation

Die Lebertransplantation (LTx) ist mittlerweile ein Standardverfahren zur Therapie von sich im Endstadium befindlichen, irreversiblen Lebererkrankungen (115).

Während die Anzahl der Lebertransplantationen in Deutschland im Jahre 1985 lediglich 58 betrug, wurden im Jahre 2005 bereits 885 Lebertransplantationen durchgeführt (35). Die 1-Jahres-Überlebenszeit nach Lebertransplantation beträgt heute weit über 80%, die 5-Jahres-Überlebenszeit über 70% (46,10).

Im Wesentlichen unterscheidet man heute zwischen einer orthotopen, einer heterotopen, einer Split- und einer „Piggy-Back“ Lebertransplantation.

1.1.2.1 Die orthotope Lebertransplantation

Hierbei erfolgt die End-zu-End-Anastomosierung von infra- und suprahepatischer *V. cava inferior*, Anastomosierung des Spender-*Truncus coeliacus* auf die *A. hepatica communis* am Konfluenz der *A. gastroduodenalis*, End-zu-End-Anastomosierung der Pfortader und End-zu-Seit-Anastomosierung des Gallengangs. Der venöse Blutfluss zwischen der oberen und unteren Körperhälfte wird während der anhepatischen Phase mit Hilfe eines femoro-porto-axillären Bypasses sichergestellt.

1.1.2.2 Die heterotope Lebertransplantation

Das Spenderorgan wird unterstützend zum geschädigten Eigenorgan an anderer anatomischer Stelle implantiert.

1.1.2.3 Die Split-Lebertransplantation

Die Split-, sowie die Verwandten-Lebertransplantation gewinnt aufgrund des bestehenden Organmangels immer mehr an Bedeutung. Ursprünglich für die Lebertransplantation bei Kindern verwendet, wurde später eine Leberteilungstechnik entwickelt, bei der zwei Leberhälften für je einen erwachsenen Empfänger gewonnen werden.

1.1.2.4 Die „Piggy-Back“ Technik

Diese Technik birgt den Vorteil, dass der Verlauf der *V. cava inferior* nicht unterbrochen wird. Vielmehr wird die Spender-*V. cava* mit der linken und mittleren Lebervene des Empfängers anastomosiert. Die rechte Lebervene wird, wie die infrahepatische Spender-*V.cava* ligiert. Die Rekonstruktion von Arterie, Pfortader und Gallengang erfolgt wie bei der orthotopen Lebertransplantation.

Die Indikation zur Lebertransplantation ist immer dann zu erwägen, wenn bei einem Patienten eine chronische, progrediente Lebererkrankung vorliegt und alle konservativen Therapiekonzepte ausgeschöpft sind. Krankheitsbilder, die eine Lebertransplantation notwendig machen können, sind in *Tabelle 1* zusammengefasst. Die Dringlichkeit einer Lebertransplantation wird mit dem MELD-Score erfasst, welcher 1998 vom „US Department of Health and Human Services“ festgelegt wurde und den bis dahin gültigen Child-Turcotte-Pugh-Score ablöste.

Tabelle 1: Indikationen zur Lebertransplantation

Leberparenchymerkrankungen <ul style="list-style-type: none">• posthepatitisch (Hepatitis B, C, D)• autoimmun• alkoholisch• kryptogen
Cholestatische Lebererkrankungen <ul style="list-style-type: none">• Primär biliäre Zirrhose (PBC)• Sekundär biliäre Zirrhose• Primär sklerosierende Cholangitis (PSC)• Sekundär sklerosierende Cholangitis (SSC)• Extrahepatische Gallengangsatriesie• Progressive familiäre intrahepatische Cholestase (Morbus Byler)• Alagille-Syndrom• Kongenitale Fibrosen• Graft-versus-Host-Disease (GvHD)• Chronische Abstossung• Cholestatisch verlaufende Sarkoidose• Medikamentös-toxische Cholestase• Caroli-Syndrom
Primäre Stoffwechselerkrankungen <ul style="list-style-type: none">• α1-Antitrypsinmangel• Morbus Wilson• Hämochromatose• Tyrosinämie• Galaktosämie• Glykogen-Speicherkrankheiten• Lysomale Speicherkrankheiten

<ul style="list-style-type: none"> • Crigler-Najjar Typ I • Primäre Hyperoxalurie Typ I • Erythropoetische Protoporphyrurie • Primäre Blutungsstörungen (ggf. mit Budd-Chiari-Syndrom) • Störungen des Harnstoffzyklus (z.B. Citrullinämie) • familiäre Amyloidose
<p>Sekundäre Stoffwechselerkrankungen</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kurzdarmsyndrom
<p>Vaskuläre Erkrankungen</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fulminante Virushepatitis (Hepatitis A,B,C,D,E) • Intoxikationen • Amanita phalloides (Knollenblätter Pilz), • Paracetamol (Acetaminophen), • Halothan, • Tetrachlorkohlenstoff, • Ecstasy u.a. • Akute Schwangerschaftsfettleber • HELLP-Syndrom • Budd Chiari Syndrom • Primäre Nichtfunktion
<p>Maligne Erkrankungen</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hepatozelluläres Karzinom • Neuroendokrine Tumore (strenge Indikationsstellung) • Hepatoblastom • Cholangiozelluläres Karzinom
<p>Andere Ursachen</p> <ul style="list-style-type: none"> • Leberzysten • Lebertrauma

Ein großes Problem, welches heute noch nicht gelöst ist, stellt die zunehmende Organknappheit dar, welche dazu führt, dass ein erheblicher Teil der Patienten vor Erhalt einer geeigneten Spenderleber versterben (78,36). Aus diesem Grund werden immer mehr marginale („schlechte“) Organe transplantiert, welche sich überwiegend durch Zirrhose oder Leberverfettung auszeichnen (2,45). Die Leberverfettung ist einer der Hauptgründe für das initiale Leberversagen nach Transplantation (107).

1.2 Pathophysiologie des Ischämie-/Reperfusionsschadens

1.2.1 Primäres Organversagen

Die schwerste Komplikation, die nach Lebertransplantation durch einen Ischämie-/Reperfusionsschaden verursacht werden kann, ist das primäre Organversagen PNF (=primary non function). Die Häufigkeit des Auftretens eines primären Organversagens wird in der Literatur nicht einheitlich angegeben (4,2-8,4%) (11,80,94,95).

Das primäre Organversagen nach Transplantation stellt ein multifaktorielles Geschehen dar, welches sich aus schädigenden Einflüssen während der Spenderleberentnahme, der Organkonservierung und der Reperfusion nach Transplantation zusammensetzt. Die Schwere des Schadens ist abhängig von der kalten und warmen Ischämiezeit der Leber, der Konservierungslösung, in der die Spenderleber bis zur Transplantation aufbewahrt wurde, als auch von der Art der Reperfusion. Weiterhin besteht ein enger Zusammenhang zwischen vorbestehender Schädigung der Leber, insbesondere einer Verfettung und dem Ischämie-/Reperfusionsschaden (12,19). Technische Probleme, die zu einem frühen Versagen des Spenderorgans führen, sind insbesondere Gefäßverschlüsse, so zum Beispiel die Thrombose der *A.hepatica* oder der Pfortader.

1.2.2 Der Ischämie-/Reperfusionsschaden

Jedes Organ, das für eine Transplantation vorgesehen ist, muss primär konserviert werden. Nach langen Phasen des Experimentierens wurde Mitte der 80er Jahre die heute weit verbreitete *University of Wisconsin* Konservierungslösung in den klinischen Alltag mit großem Erfolg eingeführt (8,56). Weitere Konservierungslösungen, welche heute im klinischen Alltag Verwendung finden sind die *HTK-Bretschneider-Lösung*, die *Eurocollins-*, sowie die *Celsiorlösung* (92,99,124,127). In der Lebertransplantation ist die *University of Wisconsin* Lösung die am häufigsten verwendete Konservierungslösung.

Durch den zunehmenden Organmangel ist die Notwendigkeit gegeben, jedes verfügbare Organ zu transplantieren und neue Strategien zur Minimierung des Schadens, hervorgerufen durch Konservierung, Ischämie und Reperfusion, zu entwickeln.

Zunächst werden drei verschiedene Phasen, in denen es zur Organischämie kommt unterschieden: die Phase der kalten Ischämie, die Phase der warmen Ischämie und die Phase der Wiedererwärmung. Die kalte Ischämie ist beabsichtigt im Rahmen der Konservierung von zu transplantierenden Organen, um metabolische Prozesse zu verlangsamen. Die warme

Ischämie entsteht im Rahmen von Trauma, Schock, Leberchirurgie (Pringle Manöver) und Transplantation, also dann, wenn die physiologische Leberdurchblutung gestört ist. Die Phase der Wiedererwärmung entsteht während der Organimplantation vor der Freigabe des Blutflusses. Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt auf den Bedingungen der Lebertransplantation und somit auf der kalten Ischämie und der Ischämie während der Wiedererwärmung.

Der Ischämie-/Reperfusionsschaden ist für ca.10 % des primären Organversagens nach Lebertransplantation verantwortlich und eine gefährliche Komplikation, die das Leben des Patienten unmittelbar gefährdet (38). Zwar gibt es Strategien, welche zu einer Reduktion des Ischämie-/Reperfusionsschadens führen, jedoch gibt es bis heute noch keine Behandlungsmöglichkeit, die einen Ischämie-/Reperfusionsschaden verhindern könnte.

1.2.2.1 Einfluss des Ischämie-/Reperfusionsschadens auf Gefäßendothelzellen

An der Entstehung des Ischämie/Reperfusionsschadens sind aktivierte Kupfferzellen, Granulozyten, Sinusendothelzellen (SEC), Epithelzellen der postsinusoidalen Venolen und freie Sauerstoffradikale beteiligt. Die Interaktion dieser Elemente führt zu strukturellen Gewebeschäden, welche wiederum zu einer hepatozellulären Dysfunktion führen. Dabei sind nichtparenchymatöse Zellen (Kupfferzellen, SEC) anfälliger für einen Schaden, hervorgerufen durch kalte Ischämie, als Hepatozyten (66). Von den Gefäßwänden spalten sich SEC ab und prolabieren in das Gefäßlumen, dabei werden das Zytoplasma und das Zytoskelett dieser Zellen verändert. Durch die so entstandene Schädigung der Gefäßwand kommt es zur Adhäsion von Thrombozyten und Leukozyten, was eine Störung der Mikrozirkulation nach sich zieht (16,76). Außerdem kommt es im Rahmen der kalten Ischämie zur Thrombozytendhäsion an SEC und zur Apoptose dieser (22,123). Als Konsequenz dieser Vorgänge kommt es zur Gewebshypoxie, welche den Energiestoffwechsel und die Funktion einzelner Enzyme beeinträchtigt. Es resultiert eine Entleerung von Adenosin Triphosphat (ATP), eine Verminderung der Aktivität der membranständigen Natrium-Kalium-ATPase und daraus folgend eine Erhöhung des intrazellulären Natriums und ein Zellödem(8). Ein wichtiges Element in der Entstehung des Ischämie-/Reperfusionsschadens ist die Aktivierung von geschädigten Epithelzellen (39). Diese exprimieren Adhäsionsmoleküle auf ihrer Oberfläche (z.B. ICAM-1 und VCAM-1) sowie *major histocompatibility complex* (MHC) Antigene, was zu einer Interaktion zwischen Leukozyten und Epithelzellen führt (66). Das wichtigste Adhäsionsmolekül auf Epithelzellen der postsinusoidalen Epithelzellen ist P-Selektin (118,130). Dieses kann nicht von SEC gebildet

werden. Allerdings können SEC eine Reihe von anderen Adhäsionsmolekülen ausbilden. Die durch diese Interaktion aktivierten Leukozyten führen ihrerseits zu einer Gewebsschädigung. Kupfferzellen, die gewebständige Makrophagen des Lebergewebes, sind ebenfalls an der Entstehung des Ischämie-/Reperfusionsschadens beteiligt. Sie werden durch die Reperfusion nach kalter Ischämie aktiviert (17,30). Nach ihrer Aktivierung setzen die Kupfferzellen eine Reihe von Entzündungsmediatoren frei, wie z.B. TNF- α , IL-1 und IFN- γ . Außerdem werden von aktivierten Kupfferzellen freie Sauerstoffradikale freigesetzt, welche als direkte Zytotoxine an SEC, Hepatozyten und Leukozyten wirken (102).

1.2.2.2 Freie Sauerstoffradikale

Freie Sauerstoffradikale gelten als einer der wichtigsten Faktoren für die Entstehung einer Gewebeschädigung nach der Reperfusion von ischämischen Organen (27). Sie sind weiterhin eines der am frühesten erkennbaren Zeichen eines Ischämie-/Reperfusionsschadens und schon wenige Minuten nach Reperfusion in erhöhter Konzentration im zirkulierenden Blut nachweisbar. Zu Beginn der Reperfusion nach kalter Ischämie werden freie Sauerstoffradikale von Kupfferzellen exprimiert (51,52). Die spätere Bildung der Radikale geschieht im Zytochrom-P450-Metabolismus, beim Abbau von Hypoxanthin zu Xanthin im Purinstoffwechsel, in aktivierten Granulozyten und in SEC (53). Eine erhöhte Konzentration von freien Sauerstoffradikalen führt zur Schädigung von Proteinen, Enzymen, Nukleinsäuren, des Zytoskeletts und der Zellmembran, hier hauptsächlich der Lipidkomponenten (31). Als Konsequenz aus diesen Schädigungsmechanismen kommt es zur erhöhten Permeabilität der Zellmembran, was in der Lyse der Zelle resultieren kann. Der Schaden, den freie Sauerstoffradikale an SEC verursachen, führt zu Mikrozyklationsstörungen und somit zu einer Verschlechterung der Transplantatdurchblutung. Die Ischämiezeit und die Reperusionsart korrelieren mit der Bildungsrate von freien Sauerstoffradikalen (64,72,128). Auch konnte ein direkter Zusammenhang zwischen Konzentration freier Sauerstoffradikale und primärem Leberversagen nach Transplantation nachgewiesen werden (23,136).

Die Bildung von freien Sauerstoffradikalen ist ein essentielles Schlüsselereignis für die Entstehung des Ischämie-/Reperfusionsschadens. Die Entwicklung neuer Strategien, welche die Radikalbildung unterdrücken ist ein viel versprechender Ansatz zur Reduktion des Ischämie-/Reperfusionsschadens und des primären Organversagens nach Lebertransplantation.

1.2.2.3 Die Rolle der Leukozyten beim Ischämie-/Reperfusionsschaden

Durch die Aktivierung von Kupfferzellen und deren Ausschüttung freier Sauerstoffradikale kommt es zur Schädigung und Aktivierung von SEC und Epithelzellen der postsinusoidalen Venolen, welche auf diesen Stress mit der Ausbildung von Adhäsionsmolekülen (z.B. ICAM-1 und VCAM-1) reagieren (5,137). Weiterhin schütten aktivierte Kupfferzellen Entzündungsmediatoren aus (z.B. IL-1 und TNF α), was zusammen mit der erhöhten Konzentration von freien Sauerstoffradikalen zu einer Aktivierung von neutrophilen Granulozyten führt (54). Adhäsionsmoleküle neutrophiler Granulozyten interagieren mit den Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen. Die erste Stufe dieser Interaktion ist die Annäherung von neutrophilem Granulozyt und Epithelzelle („Tethering“), für welche Selektine verantwortlich sind. Durch die charakteristische Eigenschaft der Selektinbindung, innerhalb kürzester Zeit aktiviert und deaktiviert werden zu können, kommt es zum typischen Phänomen des „Rolling“. Weitere Zell-Zell-Verbindungen führen zur Anhaftung des Granulozyten am Epithel („Arrest“) und schließlich zur „Transmigration“ durch das Epithel hindurch in den extravasalen Raum (98,126). Einmal im extravasalen Raum angelangt, adherieren neutrophile Granulozyten über das Oberflächenantigen LFA-1 an ICAM-1 Molekülen der Hepatozyten. Darüber hinaus wird über das Oberflächenantigen Mac-1 die Degranulation der Granulozyten bewirkt. Es kommt zur direkten Schädigung der Hepatozyten durch Proteasen und freie Sauerstoffradikale (82,111).

Wie etliche Studien belegen, sind auch T-Lymphozyten an der Entstehung des Ischämie-/Reperfusionsschadens beteiligt. Bereits kurze Zeit nach Reperfusion im Anschluss an kalte Ischämie kommt es zur Adhäsion von T-Lymphozyten an SEC der Leber (24). Analog zu den Granulozyten kommt es zu einer Extravasation der T-Lymphozyten. Extravasal bilden sie Zytokine, Chemokine und Adhäsionsmoleküle, was zu Chemotaxis und erhöhter Adhäsion von weiteren T-Lymphozyten an SEC führt (37). Auch konnte gezeigt werden, dass CD4⁺ T-Lymphozyten an der Rekrutierung neutrophiler Granulozyten beteiligt zu sein scheinen (139). Es wird angenommen, dass die Beteiligung von T-Lymphozyten am Ischämie-/Reperfusionsschaden mit der Ausprägung einer Abstoßungsreaktion in Zusammenhang steht, was die Notwendigkeit, den Ischämie-/Reperfusionsschaden nach Organtransplantation so gering wie möglich zu halten unterstreicht (91).

1.2.2.4 Zusammenspiel Proinflammatorischer Mediatoren

Während der frühen Phase der Reperfusion kommt es zur Freisetzung zellulärer Proteine, was zu einer Komplementaktivierung führt. Komplementfaktoren führen zu einer erhöhten

Expression von Mac-1 Oberflächenantigenen auf neutrophilen Granulozyten und bewirken ihre Rekrutierung in die Lebersinusoiden (4,119,134). Des Weiteren mündet die Komplementkaskade in der Bildung des Membranangriffskomplexes, welcher zu lytischen, porenförmigen Läsionen in Zellmembranen führt.

Während der Reperfusion werden chemotaktisch wirksame Moleküle wie Zytokine, z.B. TNF- α und IL-1 von aktivierten Kupfferzellen freigesetzt (122). Wie Komplementfaktoren führen auch Zytokine zu einer Erhöhung von Mac-1 Oberflächenantigenen auf neutrophilen Granulozyten und zu deren Rekrutierung durch Chemotaxis (134). Während der frühen Phase der Reperfusion werden durch Zytokine auch CD4⁺ T-Lymphozyten chemotaktisch rekrutiert. Diese Zellen produzieren Mediatoren wie TNF- β , IFN- γ und G-CSF, welche wiederum die Aktivität der Kupfferzellen verstärken und chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten wirken (139).

Von Endothelzellen der Sinusoide und der postsinusoidalen Venolen wird während der Reperfusion nach kalter Ischämie *Thrombozyten aktivierender Faktor* (PAF) freigesetzt. PAF bewirkt die Produktion von freien Sauerstoffradikalen in neutrophilen Granulozyten und führt so zu einer zusätzlichen Schädigung von Lebergewebe (6).

1.3 Korrelation zwischen Organqualität und Ischämie-/Reperfusionsschaden

Wie bereits oben erwähnt, korreliert die Qualität einer Spenderleber mit der Ausprägung des Ischämie-/Reperfusionsschadens nach Transplantation. Besonders verfettete Lebern sind anfällig für diese Art der Schädigung und infolge dessen anfälliger für ein primäres Organversagen nach Transplantation (121,88). Durch die zunehmende Organknappheit wird aber der Druck, qualitativ minderwertigere, marginale Lebern zu transplantieren immer größer.

In etlichen Studien konnte nachgewiesen werden, dass der Grad der Verfettung von Spenderlebern mit dem Auftreten des primären Organversagens in Zusammenhang steht (88,107). Jedoch besteht keine Einigkeit darüber, ab welchem Grad der Verfettung mit einer erhöhten Gefahr für das Auftreten eines primären Organversagens oder sonstiger Schädigung zu rechnen ist. In Lebern mit gering ausgeprägter Verfettung konnte kein signifikanter Unterschied in der Transplantatüberlebenszeit im Vergleich zu nicht verfetteten Lebern nachgewiesen werden (113). Dagegen konnte nachgewiesen werden, dass in Lebern, die einen höheren Grad von Verfettung aufweisen, der Ischämie-/Reperfusionsschaden sehr ausgeprägt ist (88). So werden in diesen Organen im Vergleich zu nicht verfetteten Organen vermehrt freie Sauerstoffradikale gebildet, vermehrt Zellschäden beobachtet und eine Verminderung der Galleproduktion gemessen. Auch die Anzahl adhärenter Leukozyten in Lebersinusoiden und postsinusoidalen Venolen ist erhöht.

Jedoch nicht nur die Verfettung der Leber führt zu deren Qualitätsverlust, sondern auch andere Faktoren, wie z.B. chronischer Alkoholkonsum des Spenders. Die alkoholisch geschädigte Leber zeigt nicht nur metabolische Störungen, sondern auch Störungen der Mikrozirkulation, was zu einer Hypoxie führen kann. Außerdem kommt es im Darm durch den erhöhten Alkoholkonsum zu einer veränderten Kolonisation (63). Dies führt zu einer erhöhten Permeabilität des Darms und somit zu einer ständigen Endotoxinämie. Auch diese Faktoren führen zu einer Erhöhten Anfälligkeit der Leber auf eine Schädigung durch Ischämie und Reperfusion.

1.4 Therapieansätze zur Vermeidung des Ischämie-/Reperfusionsschadens

In den letzten Jahren konnte das Prinzip des Ischämie-/Reperfusionsschadens durch intensive Forschung immer besser nachvollzogen werden. Dieses Verständnis führte zu einer ganzen Reihe von Therapieansätzen zur Verminderung dieser Organschädigung. Verschiedene Strategien wurden entwickelt, welche hier in *1. pharmakologische*, *2. gentechnologische* und *3. chirurgische Strategien* unterteilt werden. Im Folgenden werden diese Therapieansätze besprochen.

1.4.1 Pharmakologische Strategien

Es existiert eine große Anzahl von Substanzen, welche in Bezug auf ihre Wirksamkeit in der Unterdrückung des Ischämie-/Reperfusionsschadens untersucht wurden. Die Wirkung solcher Substanzen liegt darin, dass sie entweder die schädigenden Mechanismen in der Zelle unterbrechen, oder eine pharmakologisch induzierte Präkonditionierung erreichen. Bei der pharmakologischen Präkonditionierung wird durch die Substanz ein geringes Stresslevel in den Leberzellen erzeugt. Dies führt zu einer Aktivierung von zellulären Abwehrmechanismen, welche die Zellen während des bevorstehenden, intensiveren Stresses schützt. Substanzen, welche die Leber vor einem Ischämie-/Reperfusionsschaden schützen werden im Folgenden in Gruppen unterteilt besprochen.

1.4.1.1 Antioxidantien

Freie Sauerstoffradikale tragen wesentlich zur Entstehung des Ischämie-/Reperfusionsschadens bei. Die Hauptquelle für die Entstehung der freien Sauerstoffradikale stellen Kupfferzellen dar (83). In Hepatozyten führen proinflammatorische Zytokine wie z.B. TNF- α , IL-1 oder Interferon- γ zur Radikalproduktion und -freisetzung. Weitere Bildungsorte sind Makrophagen und Leukozyten (54). Das wohl am meisten toxisch wirkende freie Sauerstoffradikal, welches in Mitochondrien gebildet wird, ist das Hydroxyl-Radikal (OH \cdot). Sein Hauptangriffspunkt stellt die mitochondriale DNS dar. Freie Sauerstoffradikale zerstören außerdem die Membranen von Zellen durch Lipidperoxidation. Weiterhin sind freie Sauerstoffradikale in der Leber wesentlich an der Apoptose von Hepatozyten und Endothelzellen beteiligt (26). Der oxidative Stress führt zur Steigerung der Membranpermeabilität von Mitochondrien, was einen entscheidenden Schritt bei der Apoptose darstellt. Aus den geschilderten Mechanismen resultiert die Idee, den Ischämie-

/Reperfusionsschaden durch Dezymierung der freien Sauerstoffradikale abschwächen zu können. Einige Beispiele für medikamentöse Therapieansätze zur Reduktion des oxidativen Stresses nach kalter Ischämie und Reperfusion sind im Folgenden aufgelistet:

- α -Tocopherol
- Idebenone
- Desferroxamin
- Gluthation
- N-Acetylcystein
- Bucillamin

Im Tierversuch konnte allen diesen Substanzen ein protektiver Effekt auf den Ischämie-/Reperfusionsschaden nachgewiesen werden (1, 43, 85, 103, 106, 133). Allerdings fand keine dieser Substanzen den Eingang in den klinischen Alltag, da, obwohl im Tierexperiment Erfolg versprechend für keines der Medikamente ein positiver Effekt am Menschen nachweisbar war.

1.4.1.2 Adenosin und Stickoxid-(NO) Donatoren

Während Ischämie und Reperfusion kommt es im Gewebe zur Akkumulation von Adenosin, welches einen starken Schutz gegen einen Ischämie-/Reperfusionsschaden bewirkt (9). Der schützende Mechanismus, den Adenosin auf das Gewebe ausübt, beruht auf einer Induktion des Enzyms Stickoxid-Synthase (108). Dies führt zu einem erhöhten Stickoxidspiegel, was den Schaden, den Hepatozyten und Endothelzellen während Ischämie und Reperfusion nehmen erheblich vermindert. Pharmakologisch besteht die Möglichkeit der Intervention auf mehreren Ebenen. Zum einen kann der Adenosinrezeptor (A2A) direkt durch Agonisten stimuliert werden (z.B. CGS 21680), zum anderen führen Stickoxid-Donatoren wie z.B. FK409 und L-Arginin zu einem Schutz vor dem Ischämie-/Reperfusionsschaden (9,73). Im Rattenmodell konnte für eine Reihe von Substanzen ein protektiver Effekt aufgezeigt werden, jedoch konnte dieser für den Ischämie-/Reperfusionsschaden nach Lebertransplantation am Menschen nicht nachgewiesen werden. Auch gibt es Anzeichen dafür, dass ein erhöhter Stickoxid-Spiegel mit verstärkter Ausprägung einer Organabstoßung einhergeht (75).

1.4.1.3 Pentoxyphyllin

Die Methylxanthinverbindung Pentoxyphyllin wird als Standardmedikament in der Therapie peripherer Gefäßerkrankungen eingesetzt. Sein Wirkungsmechanismus besteht in der reduzierten Synthese von TNF α und deren Sekretion in verschiedenen Organen (120). Die Effekte, welche Pentoxyphyllin in der Leber ausüben bestehen in einer verminderten Aktivierung von Kupfferzellen und einer Verbesserung der Mikrozirkulation (86). Ein Nachweis für die Wirksamkeit von Pentoxyphyllin nach Lebertransplantation beim Menschen steht noch aus.

1.4.1.4 Prostaglandine

Die Wirkung der Prostaglandine, welche in der Leber hauptsächlich von aktivierten Kupfferzellen freigesetzt werden besteht in deren Fähigkeit, die Leberdurchblutung zu steigern, die Thrombozytenadhäsion zu unterdrücken und einen zytoprotektiven Effekt zu besitzen. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass die Prostaglandine I₂ und E₁ die Proteasenfreesetzung und die Freisetzung freier Sauerstoffradikale in aktivierten Leukozyten vermindern (44,81). Die Wirksamkeit der Prostaglandine nach Lebertransplantation beim Menschen ist umstritten, zumal auch die systemischen Nebenwirkungen dieser Medikamente ihren Einsatz limitieren.

1.4.2 Gentechnologische Strategien

In den letzten Jahrzehnten wurde eine Reihe von gentechnologischen Werkzeugen entwickelt, die es ermöglichen, Gentherapie auch in der Transplantationsmedizin Erfolg versprechend einzusetzen. Zu diesen Werkzeugen gehört eine Vielzahl verschiedener Viren. Im Einzelnen handelt es sich dabei um adeno-assoziierte Viren, Adenoviren, Alphaviren, Lentiviren und Retroviren. Im Hinblick auf die Lebertransplantation scheint eine Genübertragung von Genen, deren Effekt z.B. die Bildung von freien Sauerstoffradikalen verhindert, oder Proteine zur Radikalneutralisierung bildet, auf die Spenderleber sinnvoll (84). Allerdings handelt es sich in den meisten Fällen der Leberexplantationen um dringliche, nicht aufschiebbare Eingriffe, was eine Gentherapie aus zeitlichen Gründen erschwert. Eine mögliche Indikation zur Gentherapie am Spender ist bei der Lebendleberspende gegeben. Hier ist, durch den effektiven Charakter der Operation der zeitliche Rahmen ausreichend. Im Wesentlichen werden bei der Gentherapie zwei Strategien verfolgt, nämlich die antioxidative und die antiapoptotische. Bei der antioxidativen Strategie zur Vermeidung des Ischämie-/Reperfusionsschadens mittels Gentherapie werden die Bildung oder die Wirkung von freien Sauerstoffradikalen

unterdrückt. Ein Beispiel für eine derartige Therapie ist der Gentransfer von Genen, welche für mitochondriale oder cytosolische Superoxiddismutase codieren. In tierexperimentellen Studien konnte so eine Verminderung des Ischämie-/Reperfusionsschadens erreicht werden (69). Auch für den Gentransfer von Häm-Oxygenase-1, auch *heat shock protein 32* (hsp32) genannt, konnte im Tierexperiment eine Verbesserung der Spenderleberfunktion und der Überlebenszeit festgestellt werden (25).

Die antiapoptotische Strategie zur Vermeidung der Ischämie-/Reperfusionsschadens mittels Genterapie versucht, den programmierten Zelltod von Hepatozyten nach Lebertransplantation zu verhindern. Z.B. konnte im Tierversuch gezeigt werden, dass ein adenoviraler Transfer des Onkogens Bcl-2 die Anzahl apoptotischer Hepatozyten nach Ischämie und Reperfusion signifikant verminderte. Proteine, die von dem Bcl-2 Gen codiert werden, sind Regulatoren des programmierten Zelltodes und können sowohl die Apoptose verhindern, als auch zu selbiger führen (61).

1.4.3 Chirurgische Strategien

Es gibt mehrere Möglichkeiten, den Ischämie-/Reperfusionsschaden durch chirurgische Maßnahmen zu vermindern. Eine Möglichkeit ist die sogenannte ischämische Präkonditionierung (3). Dabei wird vor einer geplanten Leberexplantation oder einem größeren Lebereingriff eine Phase der warmen Ischämie erzeugt, indem mittels Gefäßklemme oder Loop das *Ligamentum hepatoduodenale* temporär okkludiert wird (Pringle-Manöver). Diese Phase der ischämischen Präkonditionierung sollte zwischen 10 und 15 Minuten andauern (108). Darauf folgend werden die Leberzuführenden Gefäße wieder eröffnet und eine 10-15-minütige Reperfusion zugelassen. Nach erneuter Okklusion beginnt die eigentliche, lange andauernde ischämische Phase.

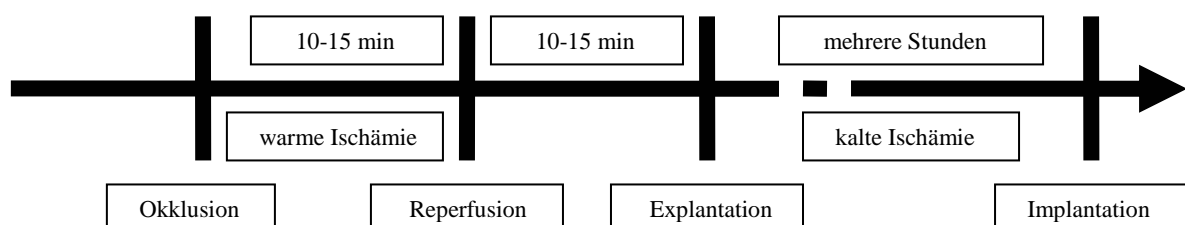


Abbildung 1: Schema der ischämischen Präkonditionierung bei der Lebertransplantation

Der Mechanismus, durch den es bei der ischämischen Präkonditionierung zu einer Protektion der Leber gegenüber einem Schaden durch Ischämie und Reperfusion kommt, ist bis heute noch nicht vollständig verstanden. Man nimmt an, dass durch die kurze ischämische Phase, die einen harmlosen Reiz darstellt, „Schutzmechanismen“ in der Zelle aktiviert werden, die die Zelle während der nachfolgenden langen Ischämie widerstandsfähiger machen. Mediatoren, welchen eine entscheidende Rolle bei der Präkonditionierung zukommt, sind das Adenosin, Stickstoff Monoxid, oxidativer Stress, die sogenannten *heat shock proteine*, dabei besonders das HSP 72 und Heme Oxygenase-1 (HSP 32), sowie TNF α . TNF α induziert die Apoptose in Hepatozyten und Endothelzellen (109).

Die Apoptose ist einer der zwei Mechanismen, die in der postischämischen Phase zum Zelltod führt, der zweite ist die Nekrose. Durch die ischämische Präkonditionierung wird die Apoptose in geringerem Maße angeregt, wobei sich der Übergang von Apoptose zu Nekrose fließend darstellt (70,135). Ein wichtiger Mechanismus der Präkonditionierung ist die Aktivierung der NO-Synthase durch Adenosin (87). NO vermindert durch direkte Blockade von Caspasen die Apoptose. Weiterhin wird durch die ischämische Präkonditionierung ein oxidativer Stress im Gewebe ausgelöst, was zur Aktivierung von zelleigenen Schutzmechanismen führt (112). Unter anderem handelt es sich bei diesen Schutzmechanismen um Protein Kinase C, AMP-aktivierte Protein Kinase, p38 aktivierte Protein Kinase, IK Kinase und die Aktivierungsmöglichkeit von Transkriptionsfaktor I (108). Alle diese Faktoren schützen die Zelle vor Apoptose, aktivieren antioxidative Prozesse und führen zum Eintritt in den Zellzyklus.

Ergänzend wird erwähnt, dass bei Operationen an der Leber, die es verlangen, dass der Blutzufuhr unterbrochen wird, um einen größeren Blutverlust zu vermeiden (Pringle-Manöver), ein der ischämischen Präkonditionierung ähnliches Verfahren zur Verminderung eines Ischämie-/Reperfusionsschadens angewendet wird. Es handelt sich dabei um das Verfahren des intermittierenden Abklemmens. Dabei wird Ischämie und Reperfusion im Wechsel durchgeführt. Als die besten Zykluszeiten wurde in einer randomisierten Studie eine 15-minütige Ischämie mit darauf folgender 5-minütiger Reperfusion gefunden (7).

Interessanterweise kann ein Ischämie-/Reperfusionsschaden auch durch das Erwärmen des gesamten Körpers oder des siebten Interkostalnervengebietes vor einem größeren Lebereingriff oder einer Leberexplantation vermindert werden (71). Dieses Verfahren wird als hypertherme Präkonditionierung bezeichnet und hat in zahlreichen Tierexperimenten einen positiven Effekt auf Leberfunktion und Überleben nach Lebertransplantation gezeigt (79). Verantwortlich für den protektiven Effekt dieser Behandlung ist die Induktion von *Heat*

Shock Proteinen (HSP), besonders HSP 70, HSP 72 und Heme Oxygenase-1 (HSP 32) (20). Diese Proteine gehören zu der Klasse der Chaperone und sind an der räumlichen Faltung und dem Transport von anderen Proteinen beteiligt. Im Tierexperiment konnte außerdem beobachtet werden, dass es durch die *hypertherme Präkonditionierung* zu einer verminderten Freisetzung von proinflammatorischen Faktoren wie TNF α , IL-6 und IL-10, einer verbesserten Leberdurchblutung, einer verminderten Expression von ICAM-1 und einer verminderten Infiltration von neutrophilen Granulozyten nach Lebertransplantation kam, verglichen mit nicht vorbehandelten Lebern (132).

Als viel versprechend ist der Einsatz von extrakorporalen Perfusionssystemen zu bewerten. Die biologische Zersetzung des Organs im Laufe der Zeit wird durch die ständige Versorgung mit essentiellen Substanzen wie Glucose, Aminosäuren, Nukleotiden und Sauerstoff, sowie durch die Elimination von Giftstoffen verhindert. Somit bleibt eine gute Organqualität über längere Zeit erhalten, was sich wiederum positiv auf den Schaden auswirkt, den das Organ nach Reperfusion erleidet (42). Jedoch ist die Handhabung solcher Geräte zur extrakorporalen Perfusion derzeit noch relativ kompliziert, weswegen ein standardmäßiger Einsatz in der Klinik momentan nicht möglich ist.

Auch die Art der initialen Reperfusion nach Lebertransplantation übt einen Einfluss auf den Ischämie-/Reperfusionsschaden nach Lebertransplantation aus. Man unterscheidet hier vier verschiedene Arten der Reperfusion:

1. initiale portale Reperfusion
2. initiale arterielle Reperfusion
3. simultane arterielle und portale Reperfusion
4. retrograde Reperfusion.

In einer Reihe von Studien, welche die ersten drei der oben genannten Reperfusionstypen vergleichen, konnte allerdings keine Einigkeit darüber erzielt werden, bei welcher es zur geringsten Ausprägung des Ischämie-/Reperfusionsschadens kommt, allerdings sehen die meisten Studien den positivsten Effekt bei der simultanen Reperfusion (13,74). Die Überlegung, die zur initialen portalen Reperfusion führt, ist die Verkürzung der warmen Ischämie durch Organerwärmung in situ während der Anastomosierung und in besonderem Maße die Verkürzung der anhepatischen Phase. Demgegenüber steht die Erkenntnis, dass eine prolongierte Phase der alleinigen portalen Perfusion der Leber vor Rearterialisierung zu einer unzureichenden Sauerstoffversorgung bei schneller Erwärmung führt. Weiterhin konnte

gezeigt werden, dass es während der alleinigen portalen Perfusion zu einer ausgeprägten Mikrozirkulationsstörung in der Spenderleber kommt (97). Auch, da die Gallenwege zum größten Teil arteriell versorgt werden, sind diese bei der initialen portalen Reperfusion einem Intervall der warmen Ischämie ausgesetzt, was in einem erhöhten Auftreten von biliären Komplikationen, verglichen mit der simultanen Reperfusion, resultiert. Für die initiale arterielle Reperfusion konnte in mehreren Studien eine Verminderung des Ischämie-/Reperfusionsschadens, verglichen mit der initialen portalen Reperfusion nachgewiesen werden (128). Weiterhin zeigten sich in klinischen Studien eine Verkürzung und ein milderer Verlauf des Postreperfusionssyndroms, eine Verkürzung der Operationszeit, sowie ein niedrigerer Bedarf an Transfusionen und antifibrinolytischer Therapie. Die initiale retrograde Reperfusion über die *V. cava* mit nachfolgender anterograder Reperfusion über die Pfortader bei der „Piggy Back-Technik“ stellt eine neue Methode in der Lebertransplantation dar. Bisher wurde sie im Rahmen retrospektiver Studie erst in zwei Zentren evaluiert. Im Rahmen dieser Studien wurde eine verminderte Transaminasenfreesetzung bei nur unwesentlicher Störung der Hämodynamik im Sinne eines Postreperfusionssyndroms festgestellt.

1.5 Die Rattenlebertransplantation

In dieser Studie wurden drei hämodynamisch verschiedene Reperfuionsarten bei der orthotopen Rattenlebertransplantation evaluiert. Aus diesem Grunde sollen zunächst die Morphologie der Rattenleber und die Technik der orthotopen Rattenlebertransplantation dargestellt werden.

1.5.1 Die Morphologie der Rattenleber

1.5.1.1 Makroskopische Anatomie

Die Leber liegt als größte Drüse des Körpers subdiaphragmal und bei der Ratte annähernd in der Transversalebene an der *facies abdominalis* des Zwerchfells. Mit der *facies visceralis* liegt sie den Baueingeweiden an. Durch den Bauchfellüberzug ist die Oberfläche der Leber glatt und glänzend. Bei ein und derselben Rasse und gleicher Ernährung der Tiere besteht eine gute Korrelation zwischen dem Gewicht der Ratte und dem der Leber. Bei Lewis-Ratten, welche in dieser Studie als Versuchstiere verwendet wurden, beträgt das Lebergewicht ca. 3% des Körpergewichts (131).

1.5.1.2 Lobierung

Fissuren (*incisurae interlobulares*) unterteilen die Leber in vier verschiedene Leberlappen (*lobi hepatici*). Diese vier Lappen stehen über eine parenchymatöse Achse um die *V. cava inferior* herum miteinander in Verbindung. Im Einzelnen handelt es sich um den

1. Lobus medianus
2. Lobus lateralis sinister
3. Lobus lateralis dexter
4. Lobus caudatus

Die *Fissura umbilicalis* unterteilt den trapezförmigen *Lobus medianus* in einen linken und einen rechten Anteil. An dieser Stelle setzt das *Ligamentum falciforme* als Aufhängeband des *Lobus medianus* an und stellt eine Verbindung zum Diaphragma dar.

Der rhombenförmige *Lobus lateralis sinister* wird teilweise vom *Lobus medianus* bedeckt und verdeckt seinerseits den *Lobus caudatus*. Der *Lobus lateralis dexter* wird durch eine tiefe frontale Fissur in zwei gleichgroße, pyramidenförmige (ventrale und dorsale) Anteile unterteilt. Der *Lobus caudatus* wird ebenfalls durch eine tiefe frontale Fissur in zwei Anteile unterteilt. Zwischen diesen verläuft der Ösophagus.

Wie beim Menschen kann man auch bei der Rattenleber durch die portale Aufteilung eine Differenzierung in VIII Segmente vornehmen.

1.5.1.3 Gefäßversorgung

Die Leber besitzt eine doppelte Blutversorgung. Zum einen bekommt sie aus den unpaarigen Bauchorganen über die Pfortader (*V. portae*) nährstoffreiches venöses Blut, zum anderen fließt sauerstoffreiches arterielles Blut über die Leberarterie (*A. hepatica propria*), welche einen Endast des *Truncus coeliacus* darstellt, zur Leber. Den Hauptanteil an der Blutversorgung übernimmt mit 70-80% die *V. portae*. 20-30% des Blutes wird von der *A. hepatica propria* geliefert. Die Pfortader verläuft im *Ligamentum hepatoduodenale* und tritt zusammen mit der Leberarterie in die Leberpforte (*Porta hepatis*) ein. Hier spaltet sich die Pfortader in ihre Lappen- und Segmentäste auf. Über Äste unterschiedlicher Ordnung wird das Blut bis in die *Vv. interlobulares* verteilt. Das sinusoidale Kapillarnetz wird über *Rr. terminales* aus den *Vv. interlobulares* versorgt. Die arterielle Versorgung der Leber geschieht überwiegend aus der *A. hepatica propria*. Jedoch werden der mediale und craniale Anteil des *Lobus medianus* zusätzlich von der *A. hepatica sinistra*, einem Endast aus der *A. gastrica*

sinistra versorgt. Die Aufzweigung der beiden Arterien in ihre Lappen- und Segmentäste erfolgt bis zu den *Aa. interlobulares* weitgehend entsprechend der der Pfortader. Jedoch münden die Interlobulararterien nicht ausschließlich in das sinusoidale Kapillarnetz, sondern ergießen sich auch in das interlobuläre Gewebe. Die *A. hepatica*, die *Vena portae* und der *Ductus choledochus*, sowie deren Äste verlaufen stets gemeinsam zu den einzelnen Segmenten (55).

In die Sinusoide tritt sowohl das arterielle, wie auch das portal-venöse Blut ein. Nach Durchfließen der Sinusoide gelangt das „Mischblut“ in die Zentralvenen (*Vv. centrales*) innerhalb des Leberläppchens. Am Außenrand des Läppchens stößt die Zentralvene senkrecht auf eine Schaltvene. Schaltvenen verlaufen entlang der Läppchenbasis und vereinigen sich zu Sammelvenen. Das venöse Blut konfluiert schließlich läppchen- und segmentweise zu den Lebervenen (*Vv. hepaticae*), welche in die *V. cava inferior* münden.

1.5.1.4 Ligamente

Die Ligamente der Rattenleber sind sehr fein ausgeprägt. Das *Ligamentum falciforme hepatis* ist sichelförmig und entspringt an der *Fissura umbilicalis*, welche den *Lobus medianus* in einen rechten und einen linken Anteil unterteilt und verbindet die Leber mit dem Zwerchfell und der Bauchwand. Im *Ligamentum falciforme hepatis* verläuft die obliterierte Nabelvene als *Ligamentum teres hepatis*. Das *Ligamentum coronarium hepatis*, welches ventral und lateral am Austritt der *V. cava inferior* entspringt, stellt eine weitere Verbindung zwischen Leber und Zwerchfell dar. Das kleine Netz (*Omentum minus*) setzt sich aus dem *Ligamentum hepatogastricum* und dem *Ligamentum hepatoduodenale* zusammen. Es zieht von der kleinen Magenkurvatur (*Curvatura gastrica minor*) zur Visceralfläche der Leber und ist mit der Leberpforte verbunden. Sowohl der *Lobus medianus*, als auch der *Lobus lateralis dexter* sind über das *Ligamentum triangulare sinister* bzw. *dexter*, welche von der Leber aus nach dorsolateral ziehen, mit dem Zwerchfell verbunden.

1.5.1.5 Gallengang und Gallenblase

Der *ductus choledochus* der aus der Konfluenz der Gallengänge der Leberlappen entsteht, verläuft im *Ligamentum hepatoduodenale*. Der *Ductus choledochus* ist zwischen 12 und 16 mm lang und misst etwa einen Millimeter im Durchmesser. Er verläuft dorsal am Duodenum und ventral an Teilen der Pankreas. Der Gallengang mündet etwa 20 mm distal des Pylorus in einer einen Millimeter hohen Papille in das Duodenum. Vor der Einmündung erhält der *ductus choledochus* Zuläufe der Bauchspeicheldrüse. Eine Gallenblase besitzt die Ratte nicht.

1.5.2 Mikroskopische Anatomie

Die Leber ist von einer subserösen, bindegewebigen, dünnen Kapsel, der *Glissonschen Kapsel*, umgeben. Ihre Ausläufer strahlen von der Leberpforte ausgehend als feines Bindegewebsgerüst in das Leberinnere ein, gliedern das Parenchym der Leber als interlobuläres Bindegewebe in Läppchen und umschließen die Gefäße der *Glissonschen Trias*. Als Glissonsche Trias bezeichnet man die an den Kontaktkanten benachbarter Leberläppchen verlaufenden *Aa.* und *Vv. interlobulares* und die interlobulären Gallengänge. Insgesamt ist der Bindegewebsanteil der Rattenleber sehr gering.

Es gibt drei Konzepte zur Strukturierung des Leberparenchyms: das Leberläppchen, das Portalvenenläppchen und den Leberazinus (Abbildung 2).

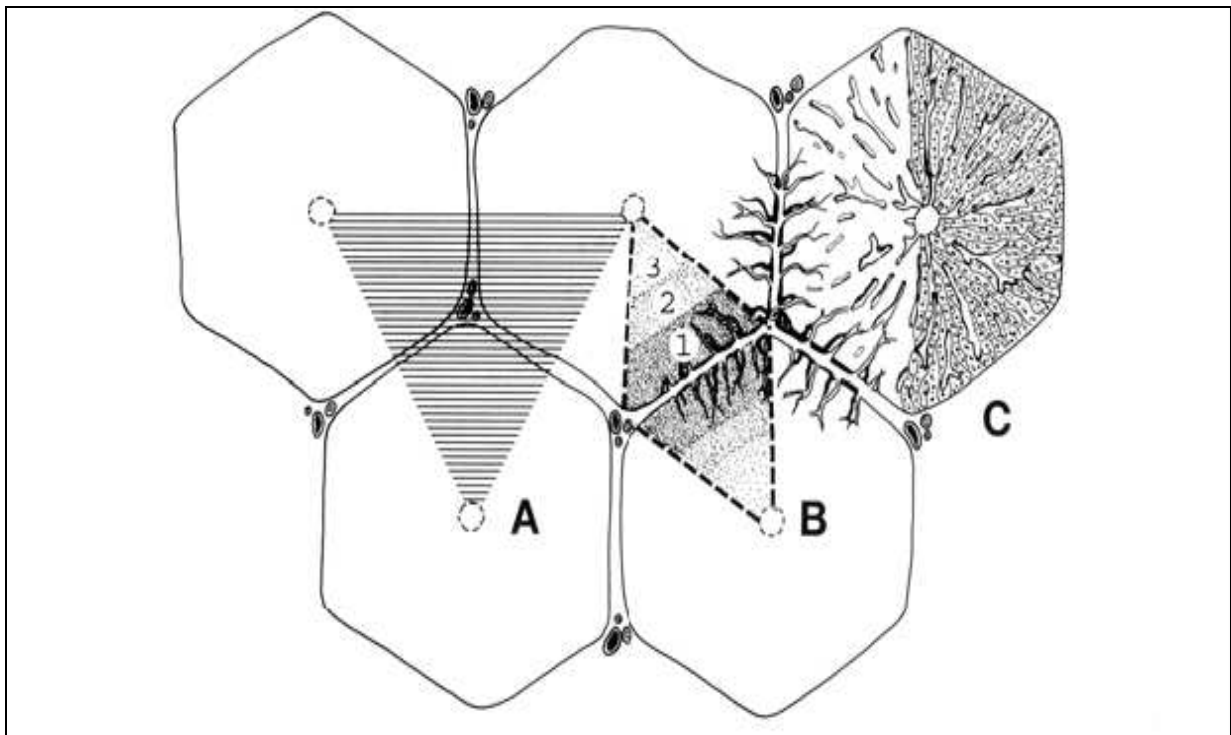


Abbildung 2: Gliederung der Leber.
(LIEBICH 1999)

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

1.5.2.1 Leberläppchen

Das Leberläppchen stellt die anatomische Grundeinheit der Leber dar. Durch die radiäre Anordnung der Leberzellbalkchen und der Sinusoide kommt es zu seiner charakteristischen Struktur. Im Querschnitt hat das Leberläppchen im Idealfall die Form eines Sechsecks, dessen Zentrum eine abführende Zentralvene bildet. Die periportalen Felder zwischen drei bis vier Leberläppchen beinhalten die Gefäße der Glissonschen Dreiecke. Die Höhe eines Leberläppchens beträgt ca. 2 mm, sein Durchmesser misst ca. 1mm. Es setzt sich aus Leberzellplatten, welche aus ein bis maximal zwei Hepatozytenlagen bestehen, zusammen. Diese bilden ein dreidimensionales Gerüst. Im Inneren der Läppchen wird durch Gitterfasern ein zartes Raumnetz gebildet, worin die Hepatozyten eingebettet sind. Dazwischen liegen die Leberkapillaren (Sinusoide), welche ebenfalls ein feines, dreidimensionales Netzwerk bilden. Ihre Ernährung geschieht durch die Endäste der Triasgefäße. Die Sinusoide streben dem Zentrum des Läppchens zu und vereinigen sich dort in der Zentralvene. Im Gegensatz zu normalen Kapillaren besitzen sie keine Basalmembran. Ihre Innenauskleidung besteht zum größten Teil aus Endothelzellen, jedoch findet man auch Kupffer-, Ito- und Pitzellen. Über Poren und interzelluläre Öffnungen steht das Kapillarlumen mit dem perikapillären Spalt (*Disse'scher Raum*) in Verbindung. Die Mikrovilli der Hepatozyten ragen in den *Disse'schen* Raum hinein und führen so zu einem direkten Kontakt zwischen Leberzelle und Kapillarblut. Auf diese Weise entsteht eine große Kontaktfläche zwischen Leberzellen und Leberkapillaren. Durch Öffnungen in den Leberzellplatten kommt es zur Verbindung zwischen verschiedenen Sinusoiden. Diese werden als intersinusoidale Sinusoide bezeichnet. Die Grenzplatte schließt das Leberläppchen gegen das interlobuläre Bindegewebe ab, es bleiben jedoch sehr kleine Öffnungen für den Durchtritt von Terminalgefäßen frei. Das Leberläppchen wird vor allem als anatomische Einheit gesehen. Da die Bindegewebsbildung in der Rattenleber nur gering ausgeprägt ist, kann die Läppchengliederung nicht immer deutlich erkannt werden.

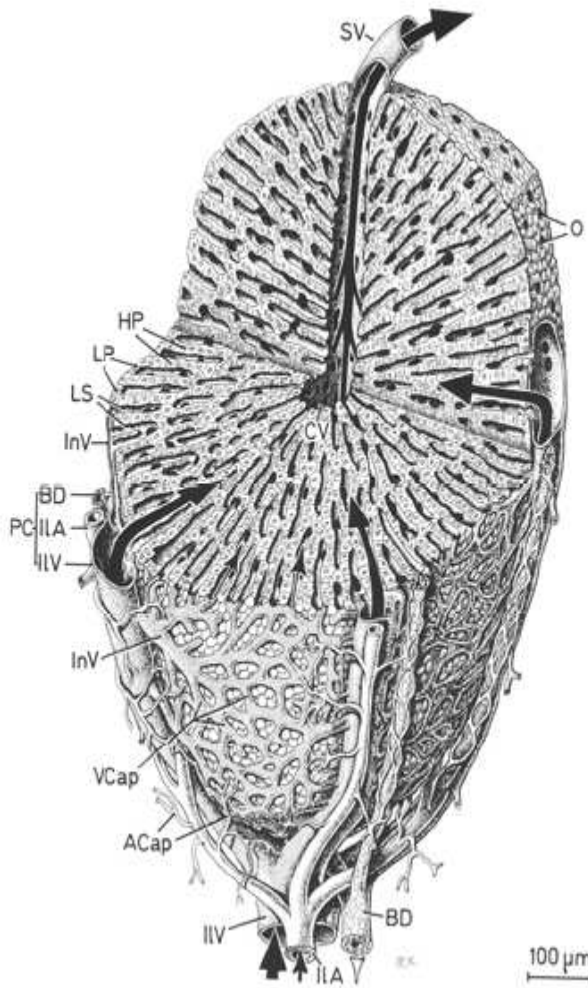


Abbildung 3:
*Klassisches
 Leberläppchen*
*ACap: arterielle
 Kapillaren*
BD: Gallengang
HP: Hepatozytenplatten
*IIA: interlobuläre
 Arterie*
IV: interlobuläre Vene
*InV: interlobuläre
 Venolen*
LP: Lamina terminalis
LS: Lebersinusoid
*O: interzelluläre
 Öffnungen*
PC: Trias
SV: sublobuläre Vene
VCap: venöse Kapillaren

1.5.2.2 Portalvenenläppchen

Die Gliederung der Leber in Portalvenenläppchen ist mehr auf funktionellen Zusammenhänge begründet. Es ist durch drei Zentralvenen definiert, welche sich um einen zentralen Gallengang gruppieren. Auf diese Weise beschreibt es den Versorgungsbezirk bzw. den Parenchymbereich, dessen Galle in den gemeinsamen interlobulären Gallengang fließt. Die Gliederung der Leber in Portalvenenläppchen beschreibt also den funktionell, sekretorischen Drüsencharakter der Leber.

1.5.2.3 Leberazinus

Als weitere funktionelle Einheit der Leber definierte Rappaport den Leberazinus. Besonderes Augenmerk legte Rappaport dabei auf die mikrozirkulatorische Komponente des Azinus. Ein Leberazinus besteht aus einer Geweberegion, deren Achse aus einem Gefäßbündel zuführender Terminaläste der Pfortader und der Leberarterie, sowie einem terminalen Gallengang gebildet wird. Ein Glisson-Feld bildet jeweils Anfang und Ende der Gefäßachse. Die anderen Eckpunkte des Leberazinus werden von zwei benachbart liegenden Zentralvenen gebildet. Die Sinusoide verlaufen radiär von der Achse des Azinus zu den Zentralvenen. Im Verlauf der Sinusoide ordnet man die um die Sinusoide angeordneten Hepatozyten drei metabolischen, unterschiedlich gut durchbluteten Zonen zu. In Richtung auf die Zentralvene zu verlangsamt sich der Blutstrom in den Sinusoiden. In Zone 1 liegen diejenigen Hepatozyten, die unmittelbar um die Azinusachse herum angeordnet sind und somit als erste mit dem Blut, das die Leber passiert in Kontakt treten. Die Flussgeschwindigkeit in Zone 1 ist schnell und das arterio-portale Mischblut noch sauerstoffreich. In den Zonen 2 und 3 vermindern sich die Flussgeschwindigkeit und der Sauerstoffgehalt des Blutes zunehmend. Aus diesem Sachverhalt ergibt sich die Erkenntnis, dass die Hepatozyten der Zone 3 im Zentralvenenbereich am vulnerabelsten auf Hypoxie, Nährstoffmangel und Durchblutungsschwankungen reagieren. Die Beziehung Leberläppchen-Azinus lässt sich nach Rappaport folgendermaßen gliedern (Abbildung 2):

- Periportale Zone: Zone 1
- Midzonale Zone: Zone 2
- Perizentrale Zone: Zone 3

Die Gliederung der Leber in Leberazini folgt einer funktionell-stoffwechselaktiven Beurteilung.

1.5.3 Das Gallengangssystem

Die von der Leber gebildete Galle wird in einem eigenen Drainagesystem gesammelt. Dieses System besteht aus Gallekapillaren, welche netzförmig angeordnet sind. Gallekapillaren besitzen keine epitheliale Gefäßwand. Vielmehr bilden modifizierte Oberflächenmembranen von Hepatozyten ihre Begrenzung. Somit kommt es durch die Erweiterung des interzellulären Raumes zur Entstehung eines tubulären Gangsystems. Dieses Gangsystem, welches primär die Galle aufnimmt, setzt sich aus Gallenkanälchen (*Canaliculi biliferi*) zusammen. Sie

besitzen einen Durchmesser von ca. 0,5 bis 1 μm . Hier fließt die Galle in einer dem Blut entgegengesetzten Richtung. Schließlich gelangt sie in Gallengänge, die noch außerhalb der periportalen Felder beginnen. Diese werden als *Hering-Kanälchen* bezeichnet und haben einen Durchmesser von 15-20 μm . *Hering-Kanälchen* münden im periportalen Feld in Gallengänge (*Ductus interlobulares bilifer*), welche von einem kubischen bis hochprismatischen Epithel ausgekleidet werden. Durch den Zusammenschluss von *Ductus interlobulares* entstehen immer größere Gallengänge (*Ductus bilifer*), die sich endlich im Hauptausführungsgang, dem *Ductus hepaticus* vereinen. Dieser verlässt an der Leberpforte das Organ.

1.5.4 Der zelluläre Aufbau der Leber

Das Lebergewebe setzt sich aus einem zellulären Volumen von etwa 80-84% und einem Extrazellulärraum (Sinusoide, Dissescher Raum, Gallengänge, extrazelluläre Matrix) von ca. 16-20% zusammen. Den größten Anteil am zellulären Volumen bilden mit ca. 74% die Hepatozyten. Die restlichen ca. 7% bilden die mesenchymalen, sinusoidalen Nicht-Parenchymzellen. Diese Gruppe setzt sich zusammen aus sinusoidalen Endothelzellen, Kupfferzellen, Ito-Zellen und Pit-Zellen.

1.5.4.1 Hepatozyten

Hepatozyten sind 15-30 μm groß, besitzen eine sechseckige Form und weisen einen, ihren vielfältigen Leistungen entsprechenden, adäquaten Zellorganellenbestand auf. Hepatozyten können entsprechend ihres Funktionszustandes mehrere polyploide Zellkerne besitzen. Auch ist die große Anzahl von Mitochondrien (bis zu 3000/ Zelle und bis zu 20% ihres Zytoplasmavolumens) auffallend. Diese dienen dem Stoffwechsel der Zelle als Energielieferant. Das rauhe endoplasmatische Retikulum liegt in den Hepatozyten als dichtes Netz vor. Seine Funktion ist die Proteinsynthese (Globuline, Fibrinogen, Gerinnungsfaktoren). Das glatte endoplasmatische Retikulum ist im Zytoplasma der Hepatozyten diffus verteilt. Es ist am Fettstoffwechsel beteiligt, z.B. an der Synthese von Lipoproteinen, Phospholipiden, Cholesterin, Triglyceriden und freien Fettsäuren. Weiterhin hat es eine zentrale Rolle in der Biotransformation endogener und exogener toxischer Substanzen. Auch ist es für die Produktion und Ausscheidung der Galle zuständig. Dabei werden Cholesterine zu Gallensäuren bzw. Gallensalzen umgewandelt und gemeinsam mit Wasser und Bilirubin in die Gallenkanälchen abtransportiert. Der Golgi-Apparat speichert die Substanzen, die im rauhen und glatten endoplasmatischen Retikulum gebildet werden.

Gleichzeitig ist er der Bildungsort zahlreicher Enzyme und von intrazellulären Membranen. Innerhalb der Zelle befinden sich weiterhin Einschlusskörper wie Glykogen und Fettvakuolen. Die im Normalzustand seltenen Fettröpfchen sind während pathologischer Vorgänge vermehrt. Aufgrund der hohen Anzahl von Mitochondrien und glattem endoplasmatischem Retikulum ist das Zytoplasma der Hepatozyten eosinophil. Die sogenannten basophilen Körper entstehen durch Ansammlungen von rauhem endoplasmatischem Retikulum.

1.5.4.2 Kupfferzellen

Kupffer-Zellen stammen von Monozyten ab, welche mit dem Blut in die Leber gelangen. Sie sind Bestandteil des retikuloendothelialen Systems. Kupfferzellen bilden einen Teil der endothelialen Wandauskleidung und sind häufig an strategischen Punkten des sinusoidalen Lumens zu finden. Mit ihren Zytoplasmfortsätzen haften sie reversibel am Kapillarendothel der gleichen aber auch der gegenüberliegenden Seite an, oder sie durchdringen die Kapillarwand und ragen in den *Disse'schen Raum*. Die Kupfferzellen übernehmen phagozytische Aufgaben. So entnehmen sie dem vorbeiströmenden Blut zirkulierende Zellfragmente, geschädigte Blutzellen und Mikroorganismen. Kupfferzellen machen etwa ein Drittel der Sinusoidwandzellen aus. Sie besitzen einen großen, ovalen und relativ chromatinreichen Kern, welcher häufig eine Hervorbuchtung ins Gefäßlumen zeigt. Die Kupfferzellen sind reich an Zellorganellen, besonders an Peroxisomen. Sie zeichnen sich durch eine hohe Peroxidaseaktivität aus.

1.5.4.3 Ito-Zellen

Ito-Zellen befinden sich subendothelial im *Disse'schen Raum* und werden auch als Fettspeicherzellen bezeichnet, da sie Vitamin-A haltige Lipidtropfen enthalten. Ito-Zellen können zwei Funktionszustände einnehmen, den ruhenden und den aktiven. Im ruhenden Zustand speichern sie Fettröpfchen, welche mit dem Blut angeschwemmt werden. Durch Botenstoffe wie TNF α , IL-1 und TGF- β werden sie in den aktiven Zustand überführt. Aktiviert können sich Ito-Zellen in Fibroblasten umwandeln, welche extrazelluläre Matrix, also Bindegewebe produzieren. Auch besitzen Ito-Zellen Zytoplasmfortsätze, welche kontraktile Elemente enthalten. Diese Fortsätze umschlingen Endothelzellen und führen bei Kontraktion zur Einengung des Lumens von Sinusoiden.

1.5.4.4 Pit-Zellen

Pit-Zellen sind in das Endothel der Sinusoide eingebettete, ortsständige Lymphozyten, welche als Natürliche Killerzellen fungieren.

1.5.5 Entwicklung der orthotopen Rattenlebertransplantation

Das Erste Modell, das die orthotope Transplantation einer Rattenleber beschrieb, wurde 1973 von *S. Lee* publiziert (67). Um das Splanchnikus-Gebiet während der anhepatischen Phase zu entlasten, in dem während dieses Zeitraums erhöhte Druckverhältnisse herrschen, benutzte er analog der Lebertransplantation beim Menschen einen extrakorporalen, porto-jugulären Bypass. Die Anastomosen der *suprahepatischen* und *infrahepatischen Vena cava inferior* sowie der *Vena portae* führte er in mikrochirurgischer Nahttechnik durch. Die arterielle Versorgung der Transplantatleber rekonstruierte er, indem er an der Spenderleber ein langes Aortensegment stehen ließ, das er End-zu-Seit mit der Aorta des Empfängers anastomosierte. Der Gallengang des Spenders wurde in das Duodenum des Empfängers implantiert. Jedoch war diese Methode extrem anspruchsvoll und mit einer Überlebensrate von 74% nicht zufriedenstellend (67).

Eine weniger anspruchsvolle und leichter zu reproduzierende Technik veröffentlichte *S. Lee* zwei Jahre später. Bei seiner neuen Technik verzichtete er auf die Arterialisierung der Spenderleber mit der Begründung, dass die transplantierte Rattenleber ohne Arterie sowohl die Transplantation gut vertrage, als auch für eine lange Zeit normal im Empfänger arbeite. Weiterhin änderte er die Reihenfolge der Anastomosen und auch den Zeitpunkt der Reperfusion. Während der anhepatischen Phase anastomosierte er zuerst die *suprahepatische Vena cava inferior*, gefolgt von der *Vena portae*. Nach diesen beiden Anastomosen gab er dem Blutfluss durch die Leber frei und erreichte so eine Verkürzung der anhepatischen Zeit von 35-45 Minuten auf etwa 25 Minuten. Erst nach der Reperfusion anastomosierte er die *infrahepatische Vena cava inferior*. Durch diese Modifikation konnte *S. Lee* auf die Benutzung des extrakorporalen Shunts verzichten (68).

Eine revolutionäre Technik der orthotopen Rattenlebertransplantation veröffentlichten *N. Kamada* und *Roy Y. Calne* im Jahre 1979. Sie verzichteten wie *S. Lee* auf eine Arterialisierung und einen extrakorporalen Shunt. Jedoch anastomosierten sie die *Vena portae* und später auch die *infrahepatische Vena cava inferior* mittels eines Polyäthylen-Cuffs (57). Sie konnten mit dieser Methode die anhepatische Phase auf 15-17 Minuten verkürzen. Eine Weitere Modifikation stellte die Rekonstruktion des Gallengangs dar. Hierbei verwendeten *N. Kamada* und *Roy Y. Calne* zwei Kunststoff-Splints, die sie nach Platzierung in den

Gallengängen von Spenderleber und Empfänger teleskopartig ineinander schoben und fixierten. Die Überlebensrate (länger als eine Woche), die durch dieses neue Modell erreicht wurde, betrug 83,3% (57).

Eine weitere Vereinfachung der orthotopen Rattenlebertransplantation veröffentlichte *F. A. Zimmermann* ebenfalls im Jahre 1979. Er verwendete für die Rekonstruktion des Gallengangs lediglich einen Teflon-Splint, über welchen er sowohl den Gallengang der Spenderleber als auch den des Empfängers stülpte und in dieser Position fixierte (138).

M. Miyata veränderte 1980 die orthotope Rattenlebertransplantation dahingehend, dass er auch die Anastomose der suprahepatischen *Vena cava inferior* mit der Cuff-Technik anastomosierte. Er konnte damit eine Verkürzung der anhepatischen Phase auf 13-14 Minuten erreichen. Nach einer Woche lebten noch 85 % der Tiere, nach zwei Monaten zeigte sich eine Überlebensrate von 55% (77).

Eine weitere Technik, die es vorsieht, die suprahepatische *Vena cava* mit einem Cuff zu anastomosieren wurde 1986 von *A. Settaf* publiziert. Er erreichte eine Verkürzung der anhepatischen Phase auf 11 Minuten. Die 2-Monats-Überlebensrate betrug bei dieser Technik 70% (110).

Eine ähnliche Methode publiziert *S. Tsuchimoto* im Jahre 1988 und erreichte eine 100-Tage-Überlebensrate von 71,4% (125).

1985 publiziert *Engemann* eine Rattenlebertransplantationstechnik mit Rearterialisierung. Diese erreichte er durch die End-zu-Seit Anastomosierung eines Spenderaortensegmentes mit der Empfängeraorta. Die Rekonstruktion des Gallenganges führte er mit Hilfe eines Teflon-Splintes durch, analog zu dem von *F.A. Zimmermann* beschriebenen Modell. Jedoch verwendete er nicht die Cuff-Technik zur Anastomosierung der Venen, sondern anastomosierte sie mittels mikrochirurgischen Nähten (33).

Ein besonderes Augenmerk liegt bei der Rattenlebertransplantation auf der Arterialisierung. Einige Studien konnten erfolgreiche Rattenlebertransplantationen ohne Rearterialisierung aufgezeigt (57,68). Jedoch besteht heutzutage Einigkeit darüber, dass eine Arterialisierung der Leber nach orthotoper Rattenlebertransplantation die Transplantatleber von dieser Maßnahme profitieren lässt (37).

In der Literatur werden zahlreiche Techniken zur Rearterialisierung beschrieben. So veröffentlichte *Y. Hasuike* 1988 eine Methode, bei der er nach rechtsseitiger Nephrektomie die rechte *Arteria renalis* des Empfängers mit einem Spender-Aortensegment in Cuff-Technik anastomosierte (47).

1989 wurde von *R. Steffen* ein Modell vorgestellt, bei dem er den *Truncus coeliacus* des Spenders mit der *Arteria hepatica communis* des Empfängers in Cuff-Technik anastomosierte (117).

Der Erste, der einen Kunststoffsplint für die Anastomosierung der Leberarterie benutzte, war *W. Gao* im Jahre 1993 (40).

2 Fragestellung

Es existiert eine Vielzahl von Studien, welche sich mit der Sequenz der Reperfusion bei der Lebertransplantation und deren Einfluss auf den Ischämie-/Reperfusionsschaden beschäftigen. Im Einzelnen handelt es sich dabei um folgende Arten der Reperfusion:

- Sequentielle, initial portale Reperfusion
- Sequentielle, initial arterielle Reperfusion
- initiale simultane Reperfusion
- initiale retrograde Reperfusion.

Während die ersten drei genannten orthograden Reperfuptionsarten bereits in etlichen tierexperimentellen, sowie klinischen Studien verglichen und untersucht wurden, existieren momentan nur zwei retrospektive Studien für die retrograde Reperfusion.

Somit erschien es sinnvoll, eine tierexperimentelle Studie zu dieser Thematik durchzuführen, da hierbei durch das Versuchsdesign die Rahmenbedingungen in allen Gruppen exakt die Selben sind.

In der hier Vorliegenden Arbeit sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Ist die retrograde Reperfusion im Rattenmodell durchführbar?
2. Zeigen retrograd reperfundierte Lebern nach Lebertransplantation laborchemisch einen geringeren Ischämie-/Reperfusionsschaden als orthograd, initial portal und orthograd, initial simultan reperfundierte Lebern?
3. Kann histologisch eine bessere Organqualität 48 Stunden nach Lebertransplantation festgestellt werden, wenn die initiale Reperfusion retrograd durchgeführt wurde, im Vergleich zur anterograd durchgeführten Reperfusion?

3 Material und Methode

3.1 Genehmigung der Tierversuche

Die für diese Studie durchgeführten Tierversuche waren gemäß des Tierschutzgesetzes von der zuständigen Behörde (Regierung von Oberbayern, München) unter dem Aktenzeichen 209.1/211-2531-89/04 vor Beginn genehmigt worden.

3.2 Versuchstiere

Für die Experimente wurden männliche syngene Lewis-Ratten (Charles-River Wiga GmbH, Sulzfeld, BRD) verwendet. Es handelt sich hierbei um Tiere aus Inzuchtstämmen, für deren Aufbau 10-50 Jahre kontrollierter Zuchtarbeit 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 regelmäßige Kontrollen an vielen verschiedenen Genorten wird gewährleistet, dass es sich tatsächlich um genetisch nahezu identische Tiere handelt.

Das Gewicht der Tiere betrug 250-300 g, wobei das Gewicht des Empfängers um ca. 20 Gramm höher sein sollte als das des Spenders, da somit eine technische Erleichterung der Transplantation erreicht wird.

Die Tiere wurden einzeln in Microlonkäfgen (Ehret GmbH, Emmendingen, BRD) auf Einstreu und bei einer Raumtemperatur von 19-24 °C sowie einem Beleuchtungsintervall von 6.00 bis 18.00 Uhr im Tierstall des Zentrums für präklinische Forschung (ZPF), Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, gehalten. Sie erhielten Wasser und eine Haltungsdiät (Pressfutter, Altromin 1324 Standarddiät, Lage, BRD) jeweils *ad libitum*.

3.3 Versuchsgruppen

Insgesamt wurden 3 Versuchsgruppen gebildet. Es wurden nur solche Tiere in die Auswertung einbezogen, die folgende Überlebenskriterien erfüllten: Keinerlei intraoperative Komplikationen, intraoperativer Blutverlust unter 0,5 ml, anhepatische Phase unter 25 Minuten, Gesamt-Anästhesie- und Operationsdauer unter 1,5 Stunden.

Gruppe I Die Reperfusion der Transplantatleber erfolgte primär über die *V.portae*, wobei die Eröffnung der *A.hepatica propria* 6 Minuten danach erfolgte. (n=7)

Gruppe II Die Reperfusion der Transplantatleber erfolgte synchron sowohl über die *V.portae* als auch über die *A.hepatica propria*. (n=7)

Gruppe III Die Reperfusion der Transplantatleber erfolgte retrograd über die infrahepatische *V.cava inferior*. (n=7)

Die Blutentnahmen erfolgten 1h, 24h und 48h *post operationem*, wobei jeweils 0,6 ml Blut aus der *V. femoralis* zur Bestimmung der Leberfunktionsparameter entnommen wurden. Im Anschluss an die letzte Blutentnahme wurde die Leber zur histologischen Aufarbeitung entnommen (siehe 3.5.2).

3.4 Chirurgisches Vorgehen

3.4.1 Operationsvorbereitung und Anästhesie

Präoperativ mussten die Tiere eine 8-stündige Nahrungskarenz einhalten. Vor der Transplantation musste eine Bronchopneumonie ausgeschlossen werden. Diese häufigsten Infektionen in der Rattenzucht können die Widerstandsfähigkeit der Tiere gegenüber dem atemdepressorisch wirkenden und atemwegsreizendn Isofluran (1-Chlor-2,2,2-trifluoräthyl-difluormethyläther) soweit herabsetzen, dass es schon bei niedrigen Dosierungen zu unverhältnismäßig tiefen Narkosen oder sogar zum Atemstillstand kommen kann. Symptom dieser Pneumonien sind deutlich hörbare Rasselgeräusche bei der Auskultation. Bei der

Sektion erkrankter Tiere fanden sich ausgedehnte Lungenabszesse und Atelektasen. Tiere in schlechtem Allgemeinzustand wurden von den Versuchen ausgeschlossen.

Der operative Eingriff, die Blutentnahmen und die Sektion wurden unter Forene® (Abbot GmbH, Wiesbaden, BRD) Inhalationsnarkose durchgeführt. Diese Narkose hat den Vorteil der guten Steuerbarkeit und der mit 0,17% sehr niedrigen Metabolisierungsrate des Isoflurans, was eine Nieren- und Leberschädigung nicht erwarten lässt. Auch lässt sich diese Narkose in der anhepatischen Phase sehr gut steuern.

Die Isofluran-Narkose führt zur reversiblen Ausschaltung des Bewusstseins, einer Verminderung der Schmerzempfindung, einer Abschwächung der Schmerz- und Schutzreflexe, sowie zur Muskelrelaxation.

Die therapeutische Konzentration des Isoflurans liegt bei 1,0-2,0 Vol.%, welche mittels eines, in einem Narkosegerät (Fa. Völker, BRD) integrierten Verdampfers geregelt wird. Als Trägergas wurde O₂ 100% verwendet. Die Narkosetiefe lässt sich durch Beobachtung der Atmung und des Muskeltonus bestimmen. Ist eine ausreichende Narkosetiefe vorhanden, ist die Atmung ruhig und regelmäßig, der Muskeltonus aufgehoben und die Muskelreflexe erloschen.

Eine Prämedikation ist bei der Isofluran-Narkose bei der Ratte nicht notwendig. Die Narkose wird in einer Ganzkörperkammer eingeleitet. Dabei handelt es sich um einen Kunststoffzylinder mit einer Länge von ca.30 cm und einem Durchmesser von ca.10cm. An beiden Deckflächen der Kammer befindet sich ein Anschluss für den Gas zu- und Gas abführenden Schlauch des Narkosegerätes.

Nach Einsetzen der Ratte in die Ganzkörperkammer wird eine Isoflurankonzentration von 5 Vol% in selbiger erzeugt, was nach ca. einer Minute zu einer vollständigen Anästhesie des Tieres führt. Nach Erlöschen der Stellreflexe kann die Ratte aus der Ganzkörperkammer genommen und auf der Operationsunterlage positioniert werden. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wird der vordere Teil des Kopfes in eine Kopfkammer verbracht. Dabei handelt es sich um einen Kunststoffzylinder mit einer Länge von ca. 6cm und einem Durchmesser von 4cm an dessen Seitenfläche sich zwei Anschlüsse für den Gas zu- und Gas abführenden Schlauch des Narkosegeräts befinden. Weiterhin ist eine Deckfläche durch eine Kunststoffmembran ersetzt, in deren zentralem Teil eine Öffnung für den vorderen Teil des Rattenkopfes liegt. In der Kopfkammer wird eine Isofluran-Konzentration von 1,5-2,5 Vol% aufrechterhalten.

Ein Nachteil der Isofluran-Narkose ist die Abnahme des Blutdrucks, jedoch stehen dem die Vorteile der einfachen Handhabung, der guten Steuerbarkeit, der Abnahme des portalen Gefäßwiderstandes und des schnellen postoperativen Erwachens gegenüber(28,105).

Um einem Auskühlen der Versuchstiere entgegenzuwirken, wurde die Operationsunterlage mittels einer Wärmematte (Fa. Horn GmbH, Gottmadingen, BRD) auf 37°C erwärmt.

3.4.2 Operationstechnik

Die Operation wurde als arterialisierte orthotope Rattenlebertransplantation (oRLTx) mit mikrochirurgischer Nahttechnik durchgeführt. Die arterielle Versorgung wurde mittels einer extrem schnell durchführbaren Splinttechnik rekonstruiert, um eine direkte Vergleichbarkeit der Versuchsgruppen zu gewährleisten.

3.4.2.1 Präparationsphase der Spenderoperation

Zu Beginn wurde die Bauchhaut rasiert und desinfiziert. Nach medianer Laparotomie von der *Symphyse* bis zum *Xyphoid* wurde der Situs mittels vierer Haltehaken exponiert und in dieser Position fixiert. Das *Xiphoid* wurde mit Hilfe einer Haltenaht nach kranial gezogen und fixiert. Nach Durchtrennung des *Lig. falciforme* wurde die linke *V. phrenica* doppelt ligiert und abgesetzt. Weiterhin wurden die hepatophrenischen und hepatogastrischen Bänder abgesetzt und das Gefäßbündel zwischen Leber und unterem Ösophagus koaguliert und abgesetzt.

Zur Präparation des *Lig. hepatoduodenale* wurde zunächst der *Lobus medianus* der Leber in Kunststoffolie eingeschlagen und nach kranial geklappt. Das Darmkonvolut wurde in eine feuchte Mullkompressen eingeschlagen und nach links gelagert. Zunächst wurde der *Ductus choledochus* freipräpariert und leberfern ligiert. Unter leichtem Zug am Ligaturfaden wurde der *Ductus choledochus* nun inzidiert, ein an den Enden angeschrägter Gallengangssplint (6mm Länge, BD Vasculon Plus 0.6 x 19mm) in sein Lumen eingeführt und mit einer Ligatur (Pharma-Hand Seide, 7-0) in seiner Position fixiert. Hierbei ist darauf zu achten, dass der Splint nicht zu weit in den Leberhilus hineingeschoben wird, damit eine Drainage aller sich im Hilus zum *Ductus choledochus* vereinigenden Gallengänge gewährleistet ist. Nun folgte die doppelte Ligatur und Durchtrennung der *V. gastroduodenalis* sowie das Freipräparieren der *V. portae* von der Einmündung der *V. lienalis* bis zum Leberhilus. Nach Verlagerung des Darmkonvoluts nach rechts wurde die *A. gastroduodenalis* doppelt ligiert und abgesetzt, dann der Verlauf der *A. hepatica propria* und *A. hepatica communis* bis zum *Truncus coeliacus* freipräpariert. Nach Rückverlagerung des Darmkonvoluts nach links wurden die Abgänge der

A. gastrica sinistra und der *A. lienalis* aufgesucht, die Arterien freipräpariert, doppelt ligiert und abgesetzt. Um den *Truncus coeliacus* im ganzen einsehen zu können, wurde die *V. splenica* doppelt ligiert und abgesetzt. Nun konnte der *Truncus coeliacus* bis zur Aorta freipräpariert werden, sodass nun die arterielle Versorgung der Leber isoliert und von der Aorta bis zum Leberhilus mobilisiert war. Dabei ist darauf zu achten, dass sich zwischen *Truncus coeliacus* und *A. mesenterica superior* eine derbe Bindegewebsplatte befindet.

Der infrahepatische Verlauf der *V. cava inferior* wurde oberhalb der Einmündung der linken *V. renalis* isoliert und die rechte *V. suprarenalis* sowie die benachbarte Lumbalvene cavanah koaguliert und abgesetzt. Darauf folgte die Ligatur der rechten *V. renalis*. Durch kurzzeitiges, linksseitiges Verlagern der Leber konnten Leber und suprahepatische *V. cava inferior* von dorsal eingesehen und von Retroperitoneum und Diaphragma abgelöst werden.

Nach stumpfem Präparieren des Retroperitonealraumes folgte die Freilegung des Aortensegments vom Zwerchfelldurchtritt bis zur Bifurkation. Mittels eines Microgefäßclips (Mehdorn-Bierner-Gefäßclip, Aesculap AG&Co KG, Tutlingen, BRD) wurde die Aortenbifurkation abgeklemmt.

Während der gesamten Spenderoperation wurde darauf geachtet, dass die Manipulationen an der Leber auf das Notwendigste beschränkt blieben und diese so schonend wie möglich erfolgten, da sich schon leichte Manipulationen negativ auf die Qualität der Spenderleber auswirken können (104).

3.4.2.2 Perfusionsphase und Organkonservierung

Die Perfusionsphase wurde mit dem Abklemmen der infrahepatischen *V. cava inferior* zwischen der Einmündung der rechten und linken *V. renalis* mittels Microgefäßclip begonnen. Im Anschluss daran wurde die Aorta oberhalb des *Truncus coeliacus* mit einem Microgefäßclip abgeklemmt. Zur Auswaschperfusion wurde die *Aorta abdominalis* bifurkationsnah punktiert und ein Perfusionskatheter (Venflon Pro 0,9x25mm) eingeführt. Als Perfusionslösung wurde NaCl 0,9% Lösung mit einer Temperatur von 4°C verwendet. Der Perfusionsdruck lag bei 100 mmHg. Dies entspricht dem physiologischen Aortendruck der Ratte. Es wurden 50 ml der NaCl-Lösung perfundiert. Dies entspricht dem zur Äquilibration erforderlichen 6-fachen Organgewicht (49).

Unmittelbar nach Beginn der Perfusion wurde über einen Zwerchfellschnitt die supraphrenische *V. cava inferior* großzügig inzidiert, um einen, durch die Perfusion bedingten Überdruck, zu vermeiden und den Abfluss von Blut und Perfundat zu ermöglichen. Während der Perfusion wurde die suprahepatische *V. cava inferior* direkt am Gefäß-Zwerchfell-

Übergang zirkulär abgesetzt. Die infrahepatische *V. cava inferior* wurde unmittelbar proximal der Einmündung der rechten *V. renalis* abgesetzt. Nach Durchtrennung der *V. portae* proximal der Einmündung der *V. splenica* und des Absetzens des *Truncus coeliacus* unter Belassen eines Aortenpatches wurde die simultane portale Perfusion beendet. Die Leber wurde an einem, am Stumpf der infrahepatischen *V. cava inferior* platzierten Microgefäßclip entnommen und für zwei Stunden in einem 4°C kühlen Konservierungsbad (NaCl-Lösung 0,9%) gelagert.

3.4.2.3 Präparationsphase der Empfängeroperation

In Isofluran-Allgemeinnarkose erfolgte nach Rasieren und Desinfizieren der Bauchhaut die Eröffnung des Abdomens durch eine mediane Laparotomie von der Symphyse bis zum Xyphoid. Die Bauchhöhle wurde mit Hilfe von vier Bauchdeckenhaken aufgespannt. Das Xyphoid wurde wie bei der Spenderoperation nach kranial fixiert.

Wie bei der Spenderoperation wurde zunächst das *Lig. falciforme* durchtrennt und die linke *V. phrenica* doppelt ligiert und abgesetzt. Anschließend wurden die hepatophrenischen und hepatogastrischen Bänder durchtrennt, sowie das Gefäßbündel zwischen Leber und Ösophagus koaguliert und abgesetzt.

Bei der sich nun anschließenden Präparation des *Lig. hepatoduodenale* wurde der *Ductus choledochus* lebernah freigelegt, knapp distal seiner Aufzweigungen im Leberhilus ligiert und proximal der Ligatur abgesetzt. Dabei wurde ein Ende des Ligaturfadens etwa 0,5 cm lang belassen, was das spätere Auffinden erleichterte. Die *V. gastroduodenalis* wurde aufgesucht, doppelt ligiert und abgesetzt. Die *V. portae* wurde bis zur Einmündung der *V. lienalis* freipräpariert.

Die infrahepatische *V. cava inferior* wurde zwischen Leber und Einmündung der rechten *V. renalis* freipräpariert. Die rechte *V. suprarenalis* und deren benachbarte Lumbalvene wurden lebernah koaguliert und abgesetzt. Durch kurzzeitiges Verlagern der Leber nach links konnte diese von dorsal eingesehen und mobilisiert werden.

3.4.2.4 Einführen eines Splints in die A. hepatica communis

Zunächst wurde das Darmkonvolut nach links verlagert und der Abgang der *A. hepatica communis* aus dem *Truncus coeliacus* aufgesucht. Direkt distal des Abgangs wurde die *A. hepatica communis* mit einem Microgefäßclip abgeklemmt. Dabei war darauf zu achten, dass weder die *A. splenica* noch die *A. gastrica sinistra* abgeklemmt wurden. Nach Rückverlagerung des Darmkonvolutes nach rechts konnten die *A. gastroduodenalis* und *A.*

hepatica propria ligiert werden. Nun wurde die *A. hepatica communis* direkt an der Bifurkation inzidiert und ein, mit Heparin beschichteter Splint (BD Vasculon Plus 0.6 x 19mm) in das Lumen vorgeschoben und mittels Ligatur (Pharma-Hand Seide, 7-0) in seiner Position fixiert. Abschließend konnten *A. gastroduodenalis* und *A. hepatica propria* proximal ihrer Ligaturen abgesetzt werden.

3.4.2.5 Explantation der Eigenleber

Initial wurde die infrahepatische *V. cava inferior* proximal der Einmündung der rechten *V. renalis*, dann die *V. portae* an der Einmündung der *V. splenica* mittels Microgefäßclip abgeklemmt. Nun wurde eine Satinsky-Klemme an der suprahepatischen *V. cava inferior* angebracht, die Leber mittels Vessel-loop nach kaudal verlagert und die Klemme am Übergang von suprahepatischer *V. cava inferior* und Zwerchfell geschlossen. Daraufhin konnten die suprahepatische und infrahepatische *V. cava* sowie die *V. portae* lebernah abgesetzt und die Leber entnommen werden. Nach Verschluss der *V. portae* begann die kritische anhepatische Phase, die einen Zeitraum von 25 Minuten nicht überschreiten sollte.

Vor Einbringung des Transplantats wurde eine feuchte, gekühlte Mullkompressen in das Leberbett eingelegt. Anschließend wurde die zu transplantierende Leber aus dem Konservierungsbad gehoben und orthotop im Empfängersitus platziert. Um einen Leberschaden durch Austrocknung zu verhindern, wurde das Spenderorgan mit Kunststoffolie abgedeckt.

3.4.2.6 Anastomosierung der suprahepatischen V. cava inferior

Mittels Eckfäden (9-0 Prolene, Fa. Ethicon, Norderstedt, BRD) wurden die Ecken der suprahepatischen *V. cava inferior* von Spender und Empfänger verknotet. Die Hinterwand wurde daraufhin fortlaufend von innen genäht. Beim Erreichen der gegenüberliegenden Ecknaht wurde dieser Faden nun am zwerchfellseitigen Stumpf nach außen durchgestochen, mit dem zweiten Eckfaden verknotet und anschließend für die Naht der Vorderwand verwendet. Um Luftbläschen zu eliminieren und dadurch eine Luftembolie zu vermeiden sollte vor Vervollständigung der Anastomose das Gefäßlumen geflusht werden.

3.4.2.7 Anastomosierung der Pfortader

Nach Entfernung der Mullkompreße und Hochlagern des Lobus medianus und des Lobus lateralis sinister ließ sich die Leberpforte darstellen. Die beiden Ecknähte (9-0 Prolene) wurden so angelegt, dass der kleinere Kreisbogen von der Hinterwand gebildet wurde, und sich dadurch die Hinterwand stärker als die Vorderwand anspannte. So konnte die Hinterwand fortlaufend von innen genäht werden. Nach Erreichen der gegenüberliegenden Ecknaht und Ausstechen des Fadens wurde er mit dem zweiten Eckfaden verknotet. Mit demselben Faden wurde nun die Vorderwand genäht.

3.4.2.8 Anastomosierung der infrahepatischen V. cava inferior

Die Gefäßnaht der infrahepatischen *V. cava inferior* erfolgte ebenfalls mit einem 9-0 Prolene-Faden in einer zur Pfortaderanastomosierung analogen Technik.

3.4.2.9 Wiederherstellung der arteriellen Versorgung

Der sich an der Transplantatleber befindliche arterielle Schenkel, bestehend aus *A. hepatica propria*, *A. hepatica communis*, *Truncus coeliacus* und Aortenpatch wurde an letzterem gegriffen und der -zuvor in die *A. hepatica communis* des Empfängers eingebrachte- Splint in das Lumen des *Truncus coeliacus* geschoben. Mittels Ligatur (Pharma-Hand Seide, 7-0) wurde er in seiner Position fixiert. Dieser Operationsschritt hat eine Zeitspanne von 30 Sekunden nicht überschreiten.

3.4.2.10 Reperfusion der Transplantatleber

Die Reperfusion der Transplantatleber wurde gruppenspezifisch vorgenommen.

Gruppe I: Unmittelbar nach Fertigstellung der *V. portae*-Anastomose wurde die Satinsky-Klemme an der suprahepatischen *V. cava inferior* und der Microgefäßclip an der *V. portae* entfernt. Damit war der temporäre Blutstau in den unpaarigen Bauchorganen aufgehoben und die kritische anhepatische Phase beendet. Die arterielle Versorgungsbahn wurde wiederhergestellt und der Microgefäßclip an der *A. hepatica communis* des Empfängertieres nach 6 Minuten entfernt.

Gruppe II: Hier wurde nach Fertigstellung der *V. portae*-Anastomose direkt die arterielle Versorgung rekonstruiert. Im Anschluss daran wurden die Satinsky-Klemme der suprahepatischen *V. cava inferior* sowie die Microgefäßclips an *V. portae* und *A. hepatica communis* zeitgleich entfernt.

Gruppe III: Im Gegensatz zu den beiden anderen Gruppen wurde hier nach der Anastomosierung der *suprahepatischen V. cava inferior* nicht die *V. portae*, sondern die *infrahepatische V. cava* anastomosiert. Nach Fertigstellung der Naht wurde der Microgefäßclip an der *infrahepatischen V. cava inferior* entfernt. Somit wurde die Transplantatleber retrograd über die *V. cava inferior* perfundiert. Nach einem Blutverlust von 0,2-0,3 ml über den Gefäßstumpf der Spender- *V. portae* wurde dieser mit einem Microgefäßclip abgeklemmt und die Naht der Pfortader vorgenommen. Nach Fertigstellung der Anastomose wurden Satinsky-Klemme und die Microgefäßclips an der *V. portae* entfernt. Nun wurde die arterielle Versorgung wiederhergestellt und der Microgefäßclip der *A. hepatica communis* 6 Minuten nach Eröffnen der Pfortader entfernt.

3.4.2.11 Rekonstruktion des Gallengangs

Im Anschluss an die Reperfusion und Arterialisierung des Transplantats folgte die Rekonstruktion des Gallengangs. Der Gallengang des Empfängers wurde quer inzidiert und der durch eine Ligatur im Spender-Gallengang fixierte Splint an seinem freien Ende in den Empfänger-Gallengang eingeführt. Über den Splint wurden die beiden Gallengangsstümpfe mittels zweier Ligaturen miteinander verbunden und fixiert (Pharma-Hand Seide, 7-0).

Die Empfängeroperation wurde mit mehrmaliger Spülung der Bauchhöhle (NaCl-Lösung 0,9%) und Verschluss der Bauchdecke in zwei Schichten (Muskel/Faszie und Haut) abgeschlossen.

3.5 Postoperative Nachsorge

Nach der Operation kamen die Tiere in Einzelkäfige und hatten sofort Zugang zu Trinkwasser. Weiterhin wurde eine Wärmezufuhr mittels Infrarotlampe während der ersten 12 Stunden durchgeführt. Die Nahrungskarenz wurde postoperativ nicht weitergeführt. Die postoperative Beobachtungszeit betrug 48 Stunden.

3.5.1 Blutentnahmen

Blutentnahmen wurden 1, 24 und 48 Stunden nach der Operation vorgenommen. Dazu wurde in Isofluran-Inhalationsnarkose die *V. femoralis* punktiert und ca. 600 µl Blut entnommen und in einer heparinisierten Eppendorf-Kanüle aufgefangen. Nach 10-minütigem Zentrifugieren bei 3000 Umdrehungen pro Minute (EBA 12; Fa. Hettich, Tuttlingen, BRD) wurde das Plasma abpipettiert und bis zur laborchemischen Auswertung der Serumwerte bei -80°C aufbewahrt.

3.5.2 Sektion

Nach 48 Stunden wurde die Sektion vorgenommen. In tiefer Isofluran-Inhalationsnarkose wurde die Leber explantiert und die rechte Hälfte des *Lobus medianus*, des *Lobus lateralis dexter*, sowie des *Lobus lateralis sinister* zur weiteren histologischen Bearbeitung entnommen. Zuvor wurde die Durchgängigkeit aller transplantatversorgenden Gefäße, insbesondere der *A. hepatica* distal der Anastomosen mittels Inzision überprüft.

3.6 Untersuchungsmethoden

3.6.1 Intraoperatives Monitoring

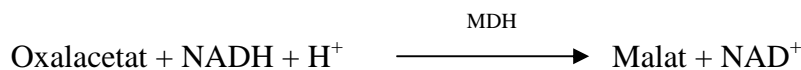
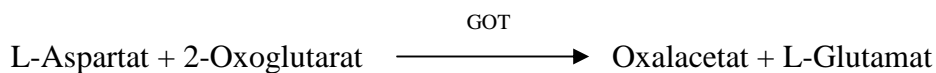
Intraoperativ wurde die Atemfrequenz, Herzfrequenz pro Minute, die periphere Sauerstoffsättigung des Blutes und die Körpertemperatur beim Spendertier nach Laparotomie, beim Empfängertier nach Laparotomie und Reperfusion gemessen.

3.6.2 Leberfunktionsparameter

Serum-GOT, -GPT, Gesamtbilirubin, AP, und -GLDH wurden beim Empfänger 1 Stunde, 24 Stunden und 48 Stunden postoperativ bestimmt. Oben genannte Leberfunktionsparameter wurden mit optimierten 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.

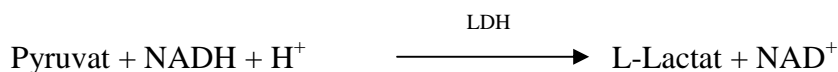
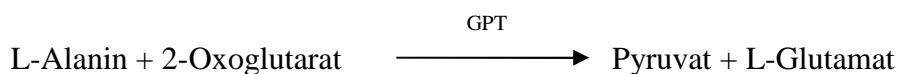
3.6.2.1 Laborchemische Bestimmungsmethoden

Bei der Bestimmung der GOT-Aktivität handelt es sich um einen optimierten UV-Test nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie:



Die Geschwindigkeit der NADH-Abnahme wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 340 nm und einer Temperatur von 37°C bestimmt. Sie ist der GOT-Aktivität im Probenmaterial direkt proportional.

Auch die Bestimmung der GPT-Aktivität ist ein optimierter UV-Test nach der Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie:



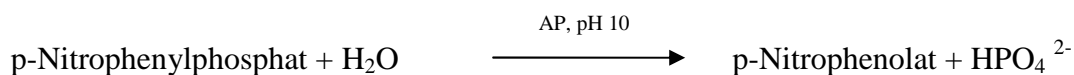
Auch bei dieser Messung wird die NADH-Abnahme bei einer Wellenlänge von 340 nm und einer Temperatur von 37°C bestimmt. Sie ist der GPT-Aktivität im Probenmaterial direkt proportional.

Die Bilirubinkonzentration wird photometrisch nach der Methode von Jandrossik und Grof durchgeführt. Das an Glucuronsäure gebundene („direkte“) Bilirubin wird mit diazotierter

Sulfanilsäure gespalten. Dadurch kommt es zur Bildung eines Azopigmentes mit Indikatoreigenschaften, welches im alkalischen Milieu photometrisch gemessen wird.

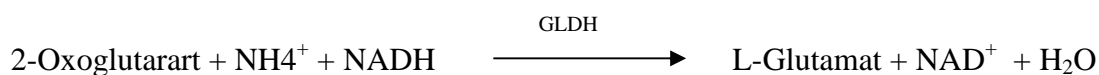
Das nicht glucuronidierte („indirekte“) Bilirubin ist im Serum an Albumin gebunden. Vor der Reaktion mit diazotierter Sulfanilsäure wird es mit Coffeinsäure aus dieser Bindung gelöst werden. Nach dieser Methode wird das Gesamtbilirubin bestimmt.

Bei der Bestimmung der alkalischen Phosphatase handelt es sich um einen optimierten UV-Test, dem folgende Reaktion zugrunde liegt:



Das entstandene p-Nitrophenolat wird bei 405 nm photometrisch gemessen.

Die GLDH wird photometrisch wie folgt bestimmt:



Die Abnahme von NADH wird photometrisch bei 340 nm gemessen.

3.6.3 Histologie

Für die histologische Auswertung wurde in allen drei Gruppen die Leber nach 48 Stunden entnommen und bis zur Weiterverarbeitung in 6%igem Formalin fixiert und vor Lichteinfall geschützt. Das so fixierte Gewebe wurde in Paraffin eingebettet. Nach Erhärten der so gewonnenen Blöcke konnten 5 µm dünne Gewebsschichten mit Hilfe eines Mikrotoms gewonnen werden. Diese wurden anschließend auf einen Objektträger aus Glas aufgebracht. Nach Aufbringen des Gewebes auf den Objektträger folgte die Färbung mit Hematoxylin und Eosin.

In allen Gruppen wurden die rechte Hälfte des *Lobus medianus*, der *Lobus lateralis dexter*, sowie der *Lobus lateralis sinister* untersucht.

Die histologische Auswertung geschah durch zwei Pathologen, welche die Schnitte geblindet, sowie unabhängig voneinander auswerteten.

Die Proben wurden anhand des Typs und der Ausdehnung der Nekrosen, bezogen auf Rappaport-Zonen, der Anzahl von Nekroseherden pro Gesichtsfeld, sowie auf das begleitende perivaskuläre Ödem beurteilt.

3.7 Statistische Auswertung

Von allen gemessenen Werten wurde gruppenbezogen der arithmetische Mittelwert (mean) gebildet, sowie die Standardabweichung des Mittelwertes (SEM) ermittelt. Sämtliche in dieser Arbeit gefundenen Werte werden als Mittelwert \pm Standardabweichung des Mittelwertes angegeben. Die Berechnung des Signifikanzniveaus erfolgte mit dem kommerziell erhältlichen Statistikprogramm SPSS. Die graphischen Darstellungen wurden mit dem kommerziell erhältlichen Statistikprogramm „Microsoft Excel“ für Office XP erstellt.

Bei der Auswertung der Laborwerte wurde zum Vergleich der Werte von mehr als zwei Gruppen die „one-way ANOVA“ Varianzanalyse angewendet. Wurden zwei Gruppen direkt miteinander verglichen, kam als „post hoc test“ der T-Test zur Anwendung. Für eine statistische Signifikanz wurde ein p-Wert kleiner 0,05 angenommen. Als Tendenz galt ein p-Wert kleiner 0,15.

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



Abbildung 4: Darstellung des Leberhilus

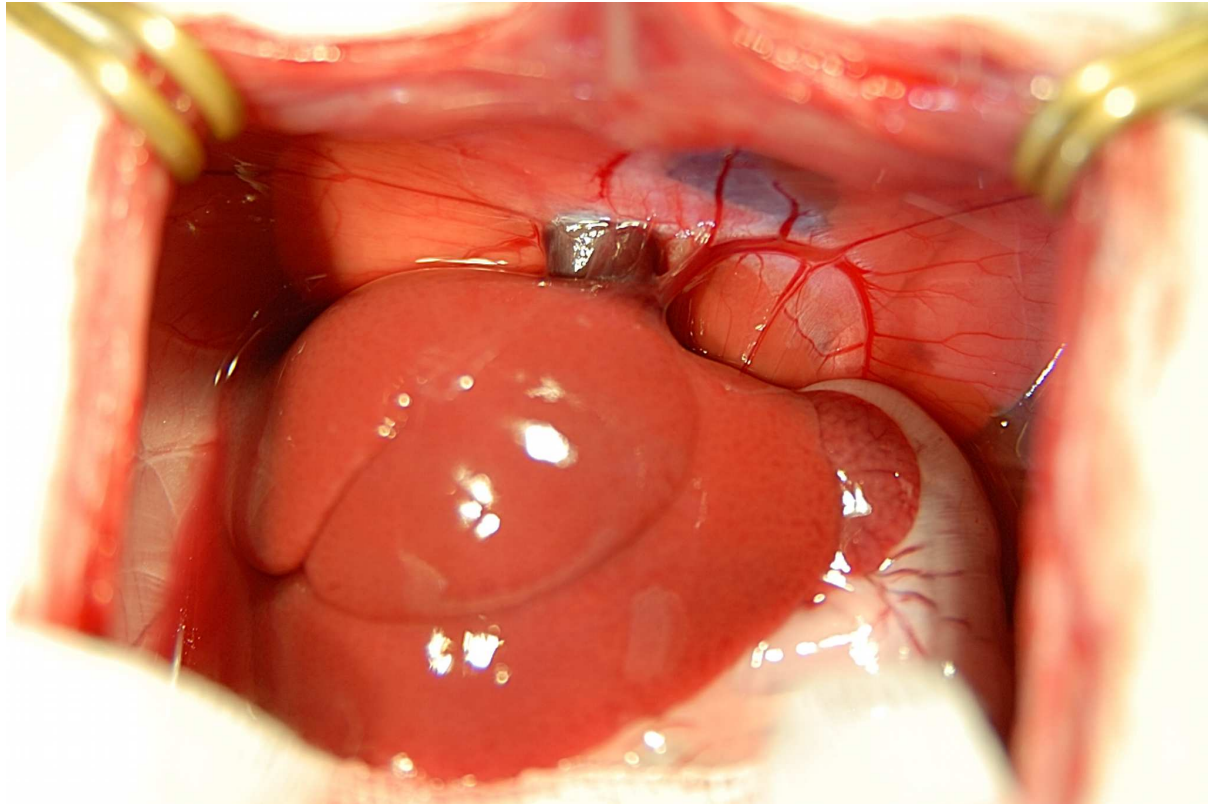


Abbildung 5: Darstellung des Lebersitus mit rechter V. phrenica

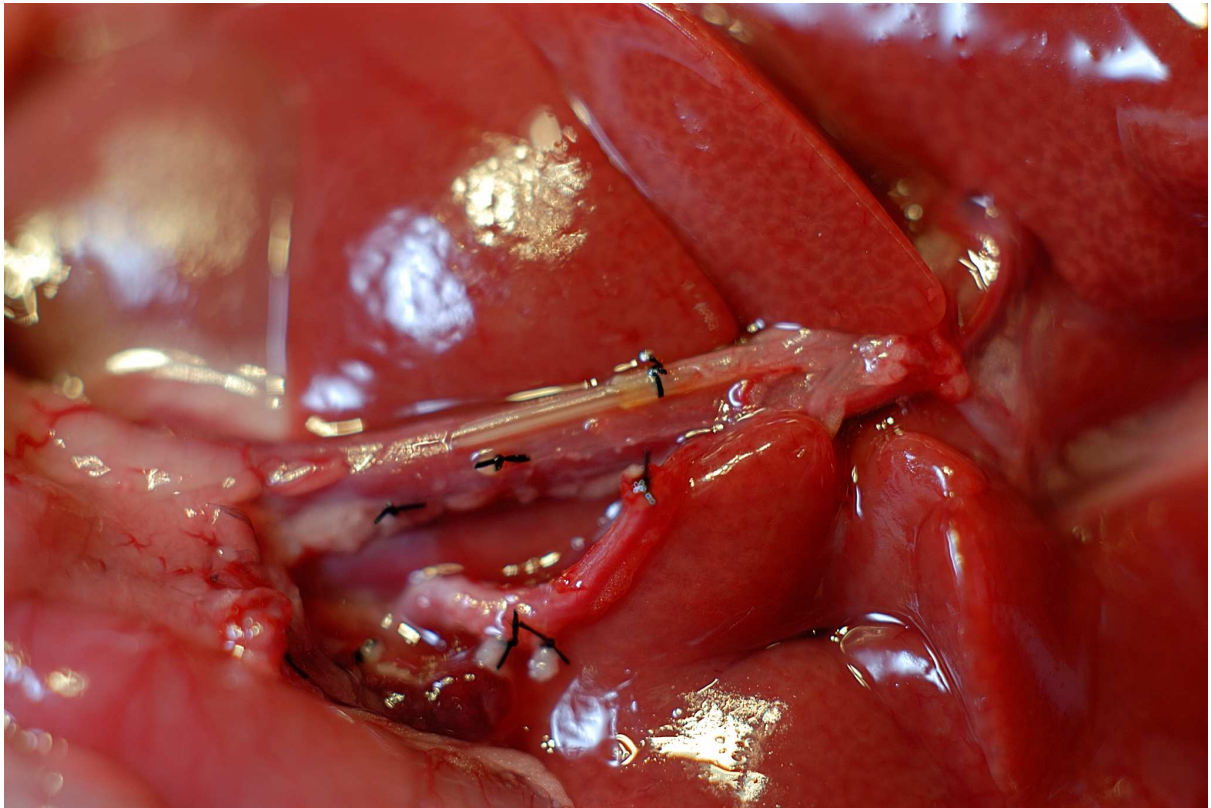


Abbildung 6: Situs nach Einsetzen des Gallengangssplints und Präparation der Leberarterie

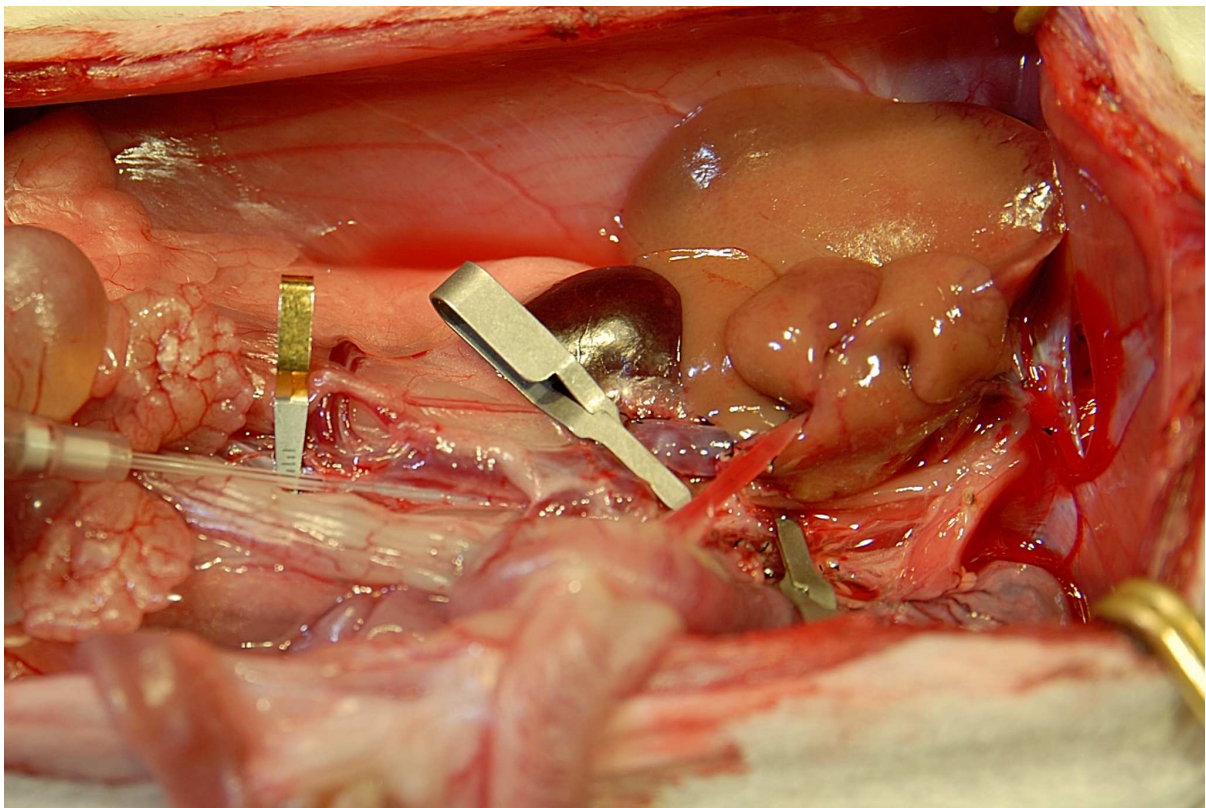


Abbildung 7: Perfusion der Spenderleber über die Aorta



Abbildung 8: Die Leber nach erfolgter Explantation

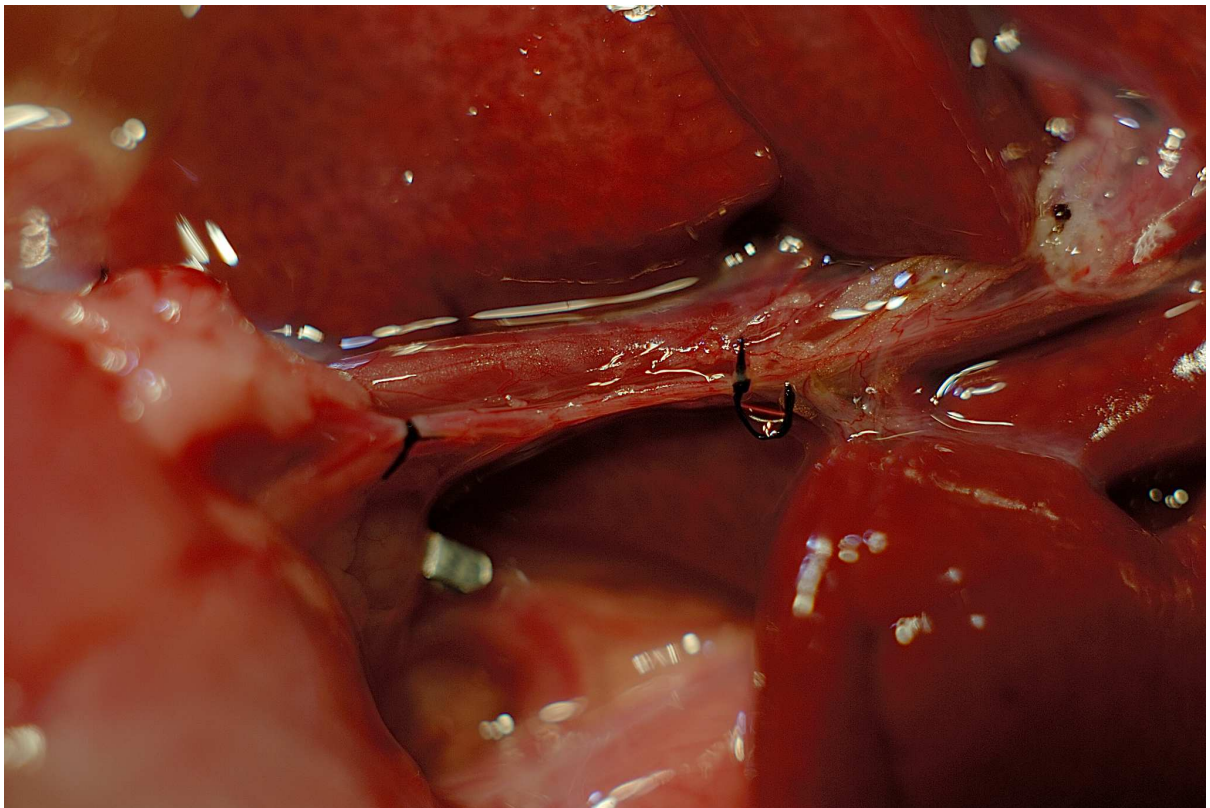


Abbildung 9: Vorbereitung der Leberarterie zum Einbringen des Splints

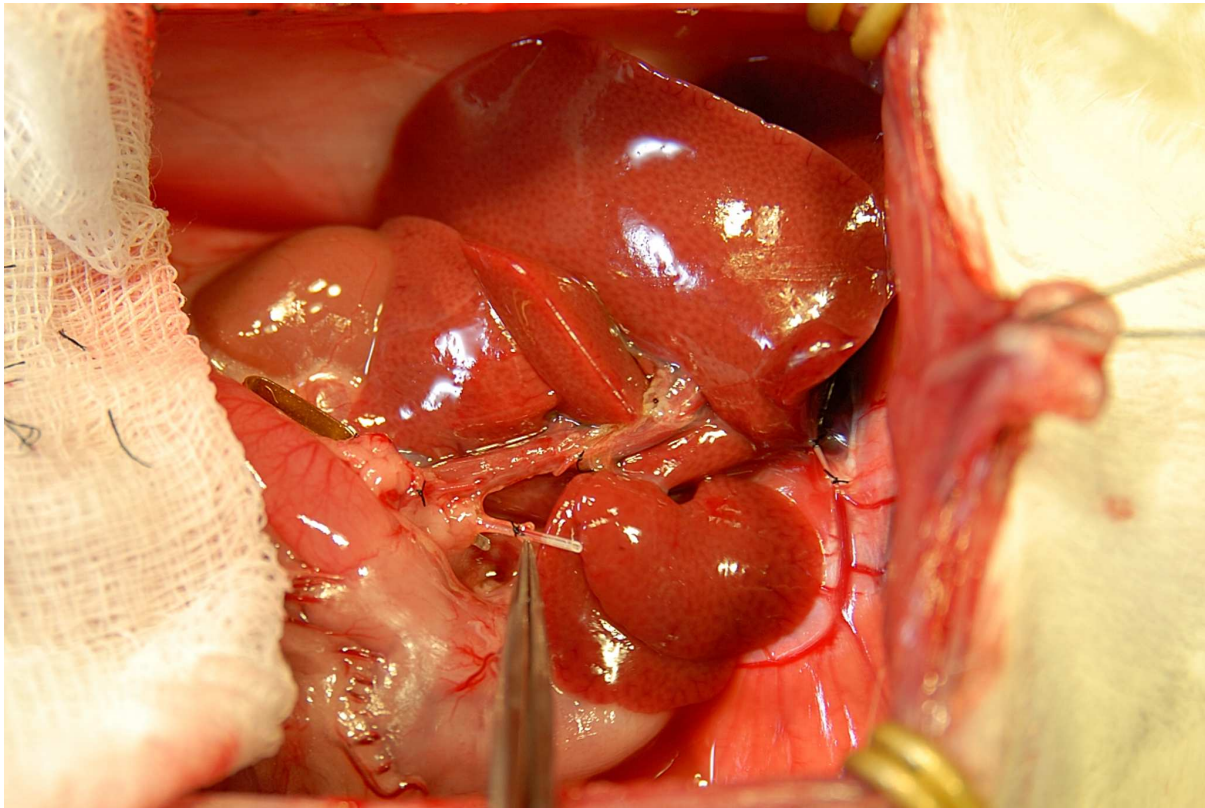


Abbildung 10: Situs nach Platzierung des Arteriensplintes

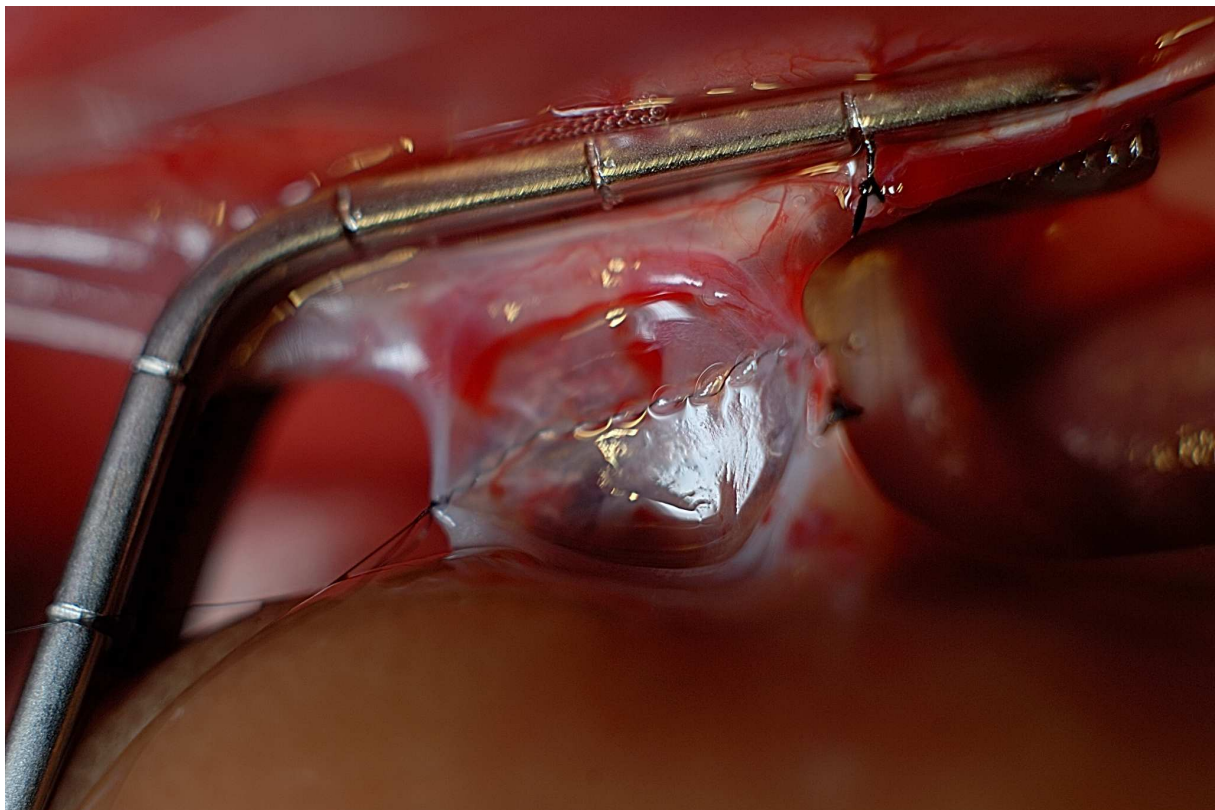


Abbildung 11: Naht der Rückwand der suprahepatischen V. cava inferior

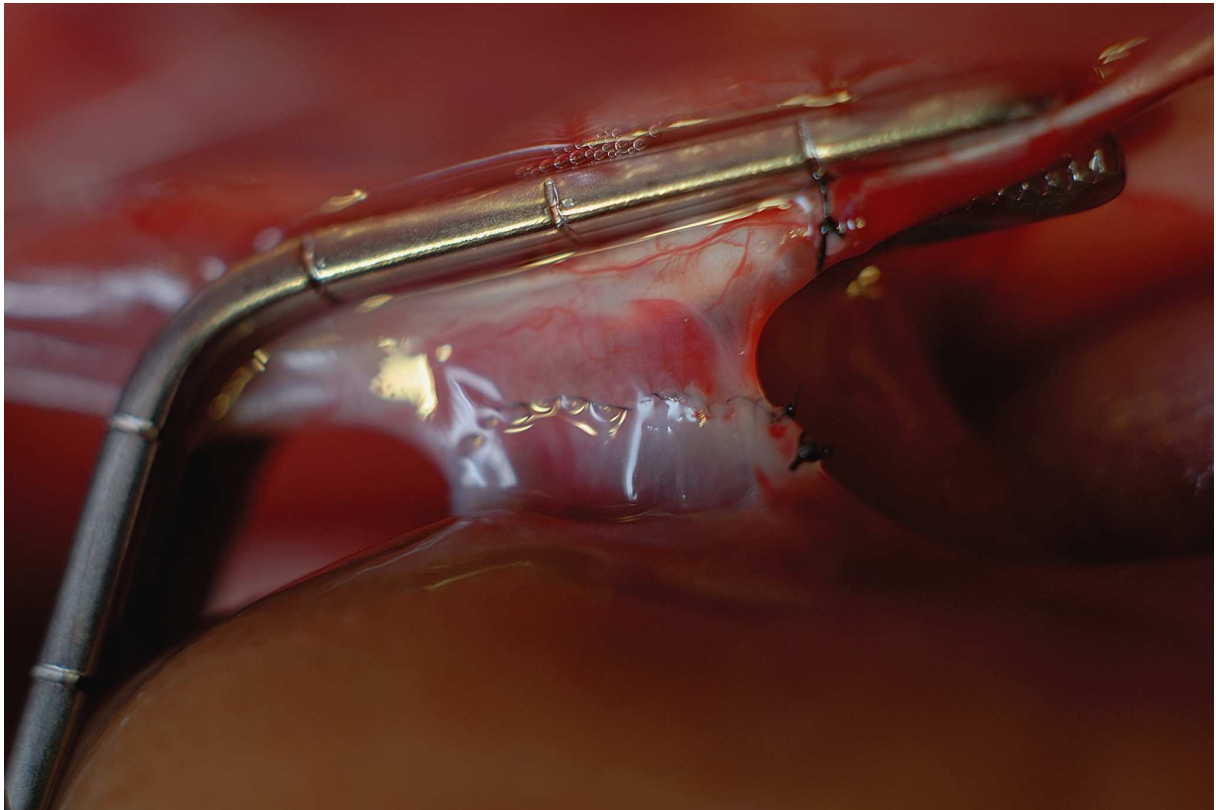


Abbildung 12: Fertiggestellte Anastomose der suprahepatischen V. cava inferior

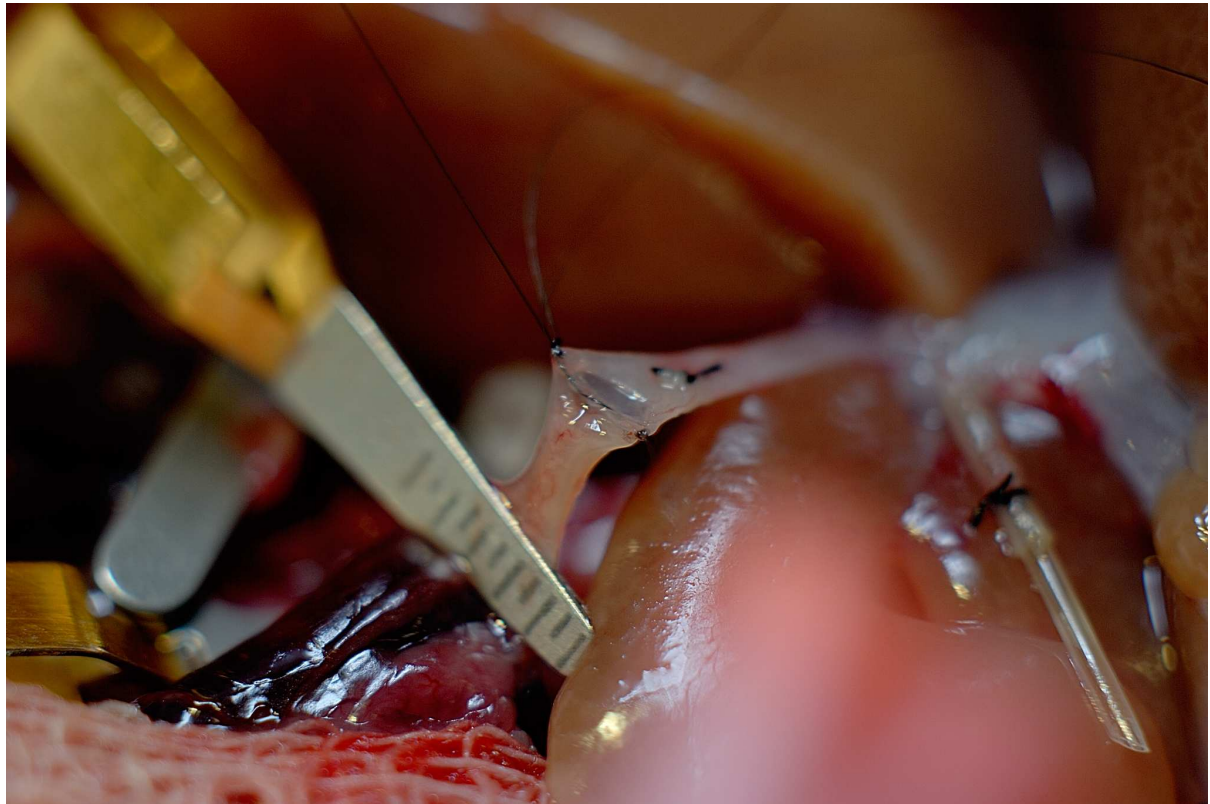


Abbildung 13: Anastomosierung der V. portae

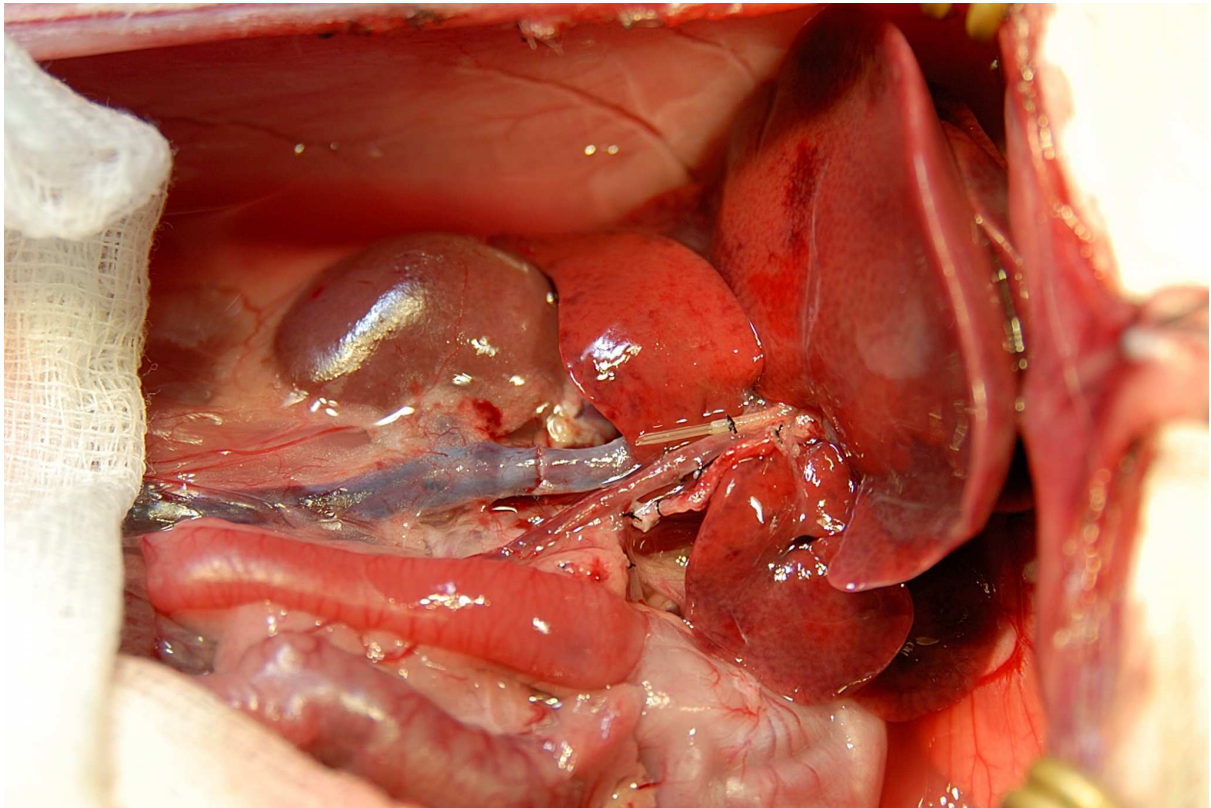


Abbildung 14: Die Leber nach der Transplantation (Gallengang noch nicht anastomosiert)

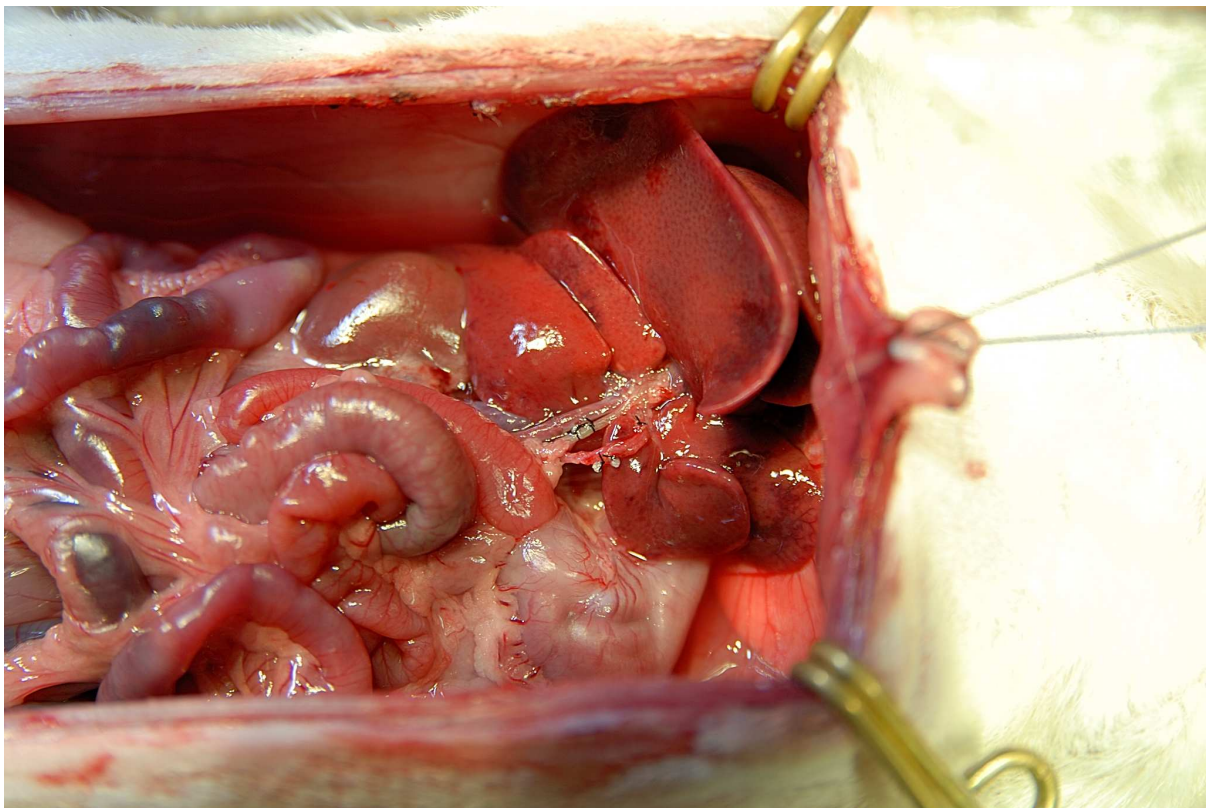


Abbildung 15: Situs nach Lebertransplantation und Vollendung aller Anastomosen

4 Ergebnisse

Die Ergebnisse, die im Laufe dieser Arbeit erhoben wurden, setzen sich aus den indirekten Zeichen einer Leberschädigung, nämlich den Laborwerten GOT, GPT, AP, Bilirubin und GLDH, als auch aus dem histologischen Aspekt, als direkte Methode zur Objektivierung einer Lebergewebsschädigung zusammen. Aber auch der intraoperative Befund war ausschlaggebend für eine Aufnahme in eine der Versuchsgruppen.

4.1 Makroskopischer Aspekt nach Reperfusion

In eine der Studiengruppen wurden nur Tiere aufgenommen, deren Transplantatleber direkt nach Reperfusion eine homogene, sowie ausreichende Durchblutung zeigte. Die Lebern zeigten eine intensive und rasche, dunkelrote Färbung unmittelbar nach Eröffnen der Klemme an der V. portae in den Gruppen I und II. In der Gruppe III wurde die Leber bereits durch die retrograde Reperfusion intensiv dunkelrot gefärbt.

Tiere, bei denen es nach der Reperfusion (anterograd oder retrograd) nicht zu einer homogenen Durchblutung kam, was auf eine operationstechnische Komplikation hindeutet, wurden aus der Studie ausgeschlossen.

4.2 Der postoperative Verlauf

In der hier vorgestellten Studie wurden insgesamt 21 erfolgreiche Rattenlebertransplantationen durchgeführt (drei Gruppen mit jeweils 7 Versuchstieren). Die Überlebensrate bis zur Entnahme der Transplantatleber 48 Stunden nach Beendigung der Operation betrug in allen drei Gruppen 100%.

Interessanterweise kam es nach Beendigung der Operation bei den Tieren der Gruppe III (retrograde Reperfusion) deutlich schneller zu einem Erwachen aus der Narkose, als bei den Tieren aus den Gruppen I und II (anterograde Reperfusion). Während die Tiere der Gruppen I

und II zwischen 20 und 25 Minuten zur Wiedererlangung ihres Bewusstseins benötigten, erwachten die Tieren der Gruppe III schon nach 10 bis 15 Minuten aus der Narkose.

Weiterhin erholten sich die Tiere gut von der Operation, was anhand der Fellqualität, der Agilität und der Bereitschaft zu fressen zu erkennen war. Die Tiere fingen unmittelbar nach Erwachen aus der Narkose mit der Fellpflege an. Diese führten sie auch im weiteren postoperativen Verlauf durch. Auch wurden die Tiere im postoperativen Verlauf immer aktiver. 24 Stunden nach der Operation war in Bezug auf Agilität schon kein Unterschied zwischen operierten und nicht operierten Tieren feststellbar.

4.3 Auswertung der Laborparameter

4.3.1 GOT

Der Mittelwert der Aktivität der GOT war in allen drei Versuchsgruppen 48 Stunden nach der Operation bereits wesentlich gegenüber dem eine Stunde nach der Operation gemessenen Wert abgefallen. In der **Gruppe I** fiel die GOT von $1893,4 \pm 402,4$ U/l, gemessen eine Stunde post OP über $1723,7 \pm 235,5$ U/l, 24 Stunden nach der Transplantation auf einen Wert von $425 \pm 86,9$ U/l, 48 Stunden nach der Operation. In der **Gruppe II** stieg der im Serum gemessene GOT-Wert zunächst von $2026,4 \pm 350,7$ U/l (nach einer Stunde) auf $2613,3 \pm 343,9$ U/l, gemessen nach 24 Stunden, um dann endlich auf $588,3 \pm 67,9$ U/l zu fallen. Die geringsten Serum GOT-Werte konnten in der **Gruppe III** gemessen werden. Der anfängliche GOT-Wert nach einer Stunde betrug im Mittel $1756,0 \pm 367,3$ U/l. Nach 24 Stunden war bereits eine Abnahme auf $1186,4 \pm 252,9$ U/l nachweisbar. 48 Stunden nach der Lebertransplantation war die GOT bereits auf $213,7 \pm 44,1$ U/l abgesunken.

Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) ergaben sich bei der GOT erstmals bei den 24 Stunden nach der Lebertransplantation gemessenen Werten. Dabei unterschieden sich im direkten Vergleich der Gruppen die Serumwerte der **Gruppen I und II**, sowie die der **Gruppen II und III**. Zwischen **Gruppe I und III** konnte 24 Stunden nach der Operation kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die GOT festgestellt werden.

Beim direkten Vergleich der Serum-GOT Werte nach 48 Stunden zeigte sich ein signifikanter Unterschied bei allen drei Gruppen (Abb. 16).

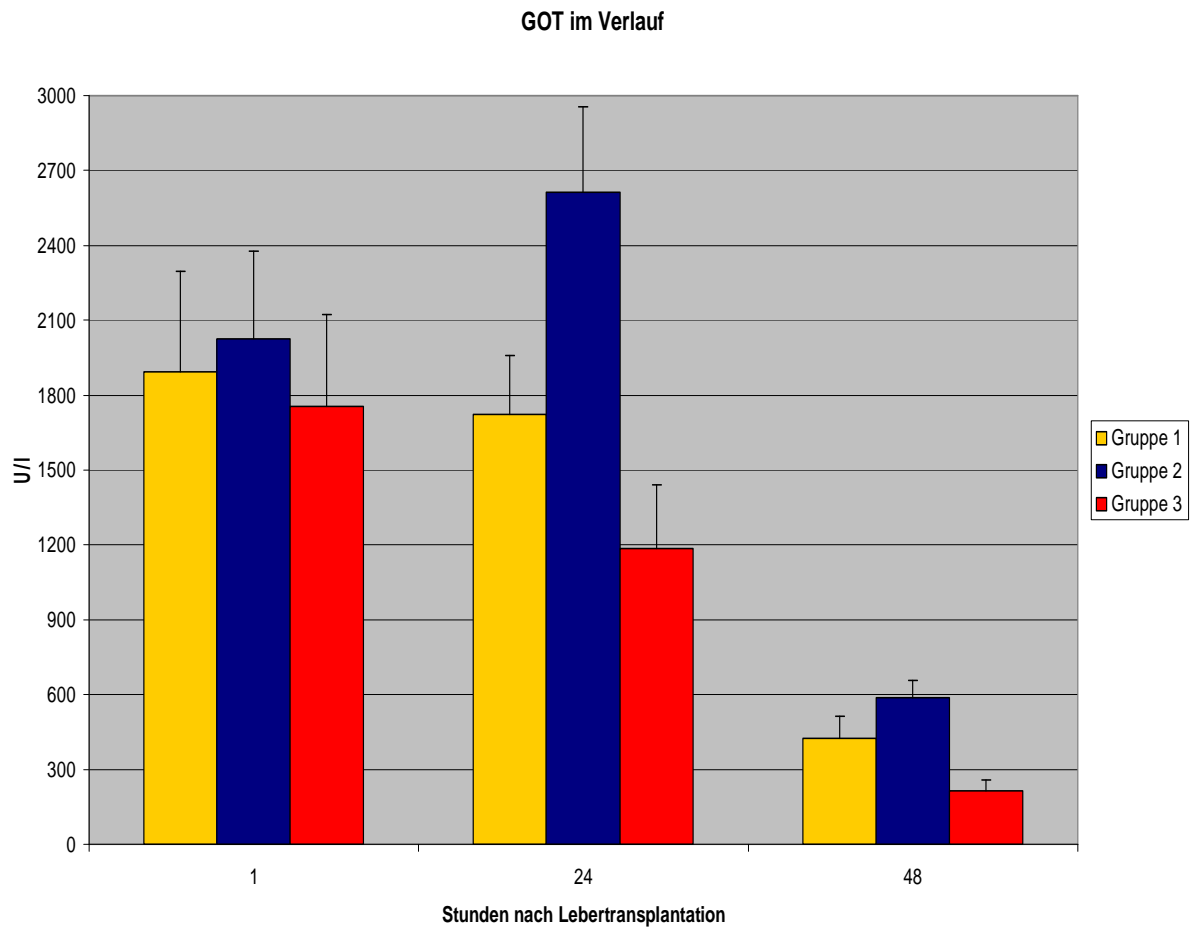


Abbildung 16: Serum GOT Aktivität

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

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

4.3.2 GPT

Wie auch die GOT, waren die Mittelwerte der gemessenen Serumaktivität der GPT im zeitlichen Verlauf rückgängig. In der **Gruppe I** betrug der gemessene Mittelwert der GPT-Aktivität im Serum eine Stunde nach der Operation 1688,86 U/l \pm 442,80. Dieser fiel im weiteren Verlauf stark ab. Nach 24 Stunden war noch ein Wert von 1089,71 \pm 171,02 U/l messbar, 48 Stunden nach der Operation lediglich noch eine Aktivität von 214,57 \pm 46,1 U/l. Die **Gruppe II** zeigte eine Stunde nach der Operation eine gemessene Serumaktivität an GPT von 1677,71 \pm 285,85 U/l. Dieser Wert sank bis zur 24. postoperativen Stunde nur wenig auf einen Wert von 1598,43 \pm 159,36 U/l. Innerhalb der nächsten 24 Stunden sank der Serum-GPT Wert jedoch stark ab, auf einen Wert von 332,0 \pm 43,9 U/l. Am geringsten waren im Mittel die Serumaktivitätswerte der GPT in der **Gruppe III**. Bei einem initialen Wert von 1462,14 \pm 357,52 U/l nach einer Stunde sank die gemessene Aktivität bis zur 24. Stunde nach Lebertransplantation auf 662,57 \pm 160,7 U/l ab. 48 Stunden nach der Operation war nur noch eine Serumaktivität der GPT in Höhe von 106,29 \pm 31,99 U/l messbar.

Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) in Bezug auf den Mittelwert der Serumaktivitäten der GPT ergaben sich zwischen allen drei Gruppen bei den Werten, gemessen 24 Stunden und 48 Stunden nach der Lebertransplantation (Abb. 17).

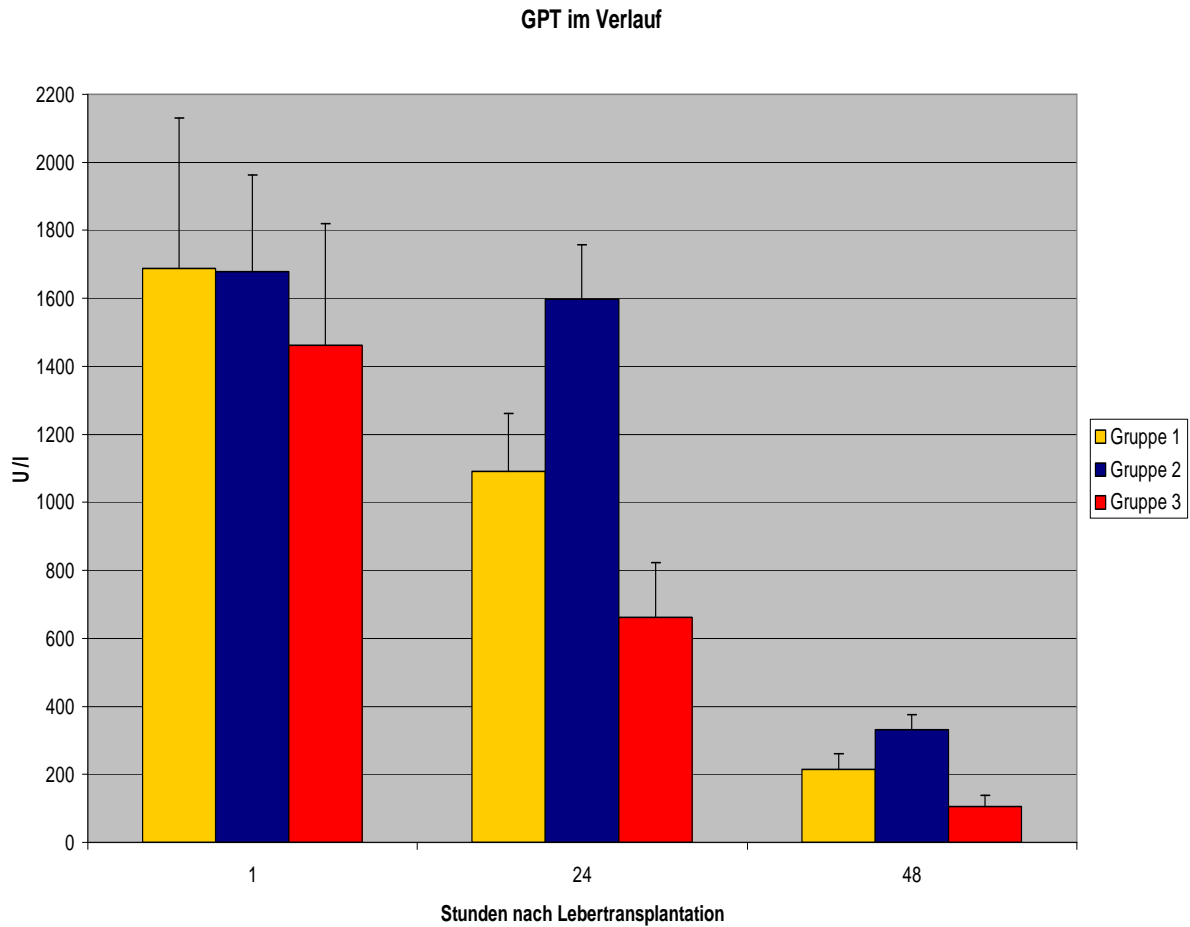


Abbildung 17: Serum GPT Aktivität

Signifikanzen nach 24 Stunden: 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 Stunden: zwischen Gruppe I und Gruppe II: $p=0,016$; zwischen Gruppe I und Gruppe III: $p=0,024$; zwischen Gruppe II und Gruppe III: $p<0,001$

4.3.3 Bilirubin

Der Bilirubinwert wies zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede auf. Auch waren alle Werte stets im Normbereich (Abb. 18).

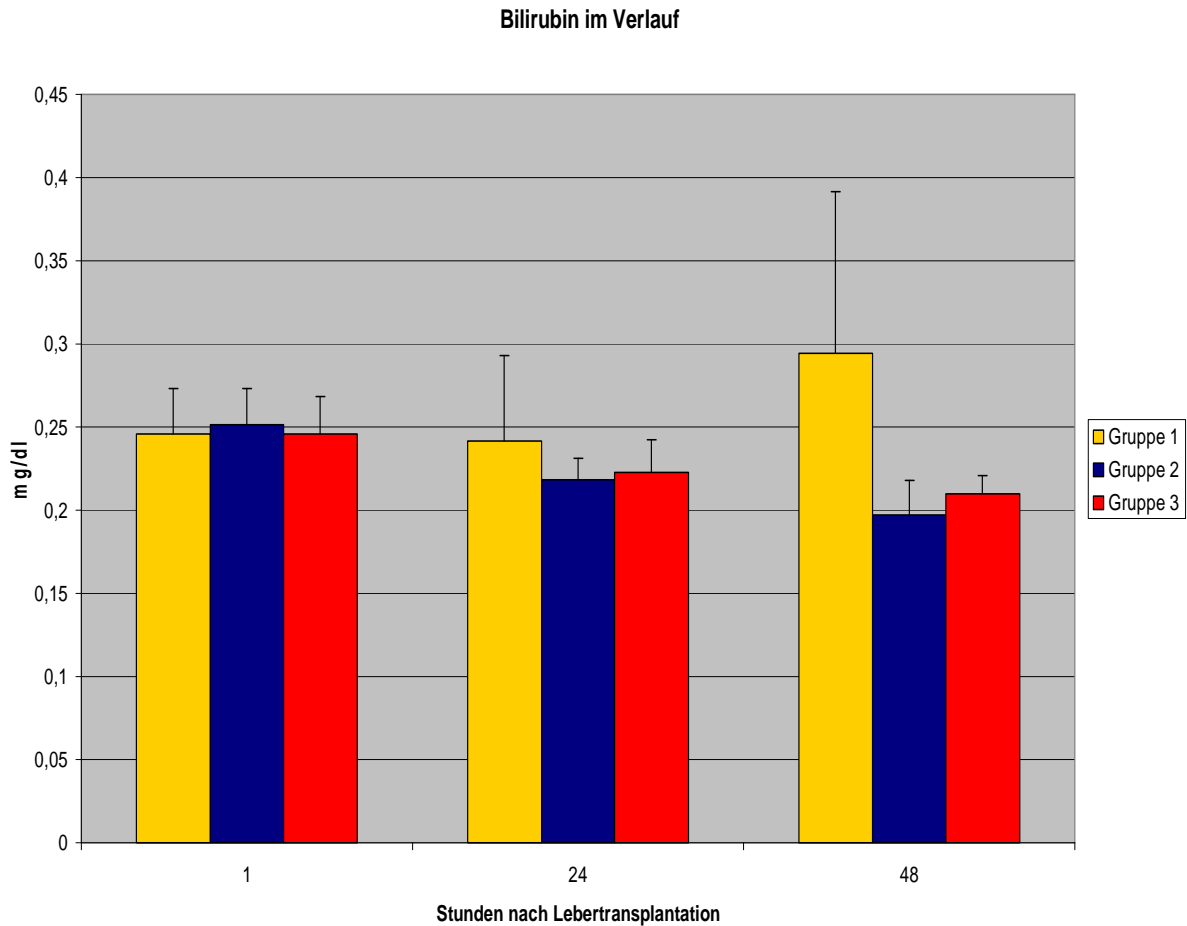


Abbildung 18: Serum-Konzentration des Bilirubins

Keine Signifikanzen feststellbar

4.3.4 Alkalische Phosphatase

Eine Stunde nach der Lebertransplantation lag der Serumwert der alkalischen Phosphatase bei allen drei Gruppen in einem ähnlichen Bereich. Der niedrigste Wert konnte bei der **Gruppe III** gemessen werden und lag bei $113,57 \pm 9,47$ U/l. In der **Gruppe II** betrug die gemessene Serumaktivität $126,29 \pm 9,90$ U/l, in der **Gruppe I** $120,29 \pm 12,90$ U/l. Während die Serumaktivität der alkalischen Phosphatase nach 24 Stunden in der **Gruppe III** nahezu konstant blieb und eine Aktivität von $111,43 \pm 13,18$ U/l aufwies, fiel sie in der **Gruppe II** auf $94,86 \pm 9,07$ U/l und in der **Gruppe I** auf $88,0 \pm 19,65$ U/l. Bis zur Stunde 48 nach der Operation war die Serumaktivität in allen drei Gruppen erneut angestiegen. Dabei zeigte sich ein starker Anstieg in der **Gruppe I** auf $142,86 \pm 13,69$ U/l. Die **Gruppe II** zeigte bis zur 48. postoperativen Stunde den geringsten Anstieg der Serumaktivität der alkalischen Phosphatase auf $108,57 \pm 16,52$ U/l. In der **Gruppe III** stieg der Wert auf $145,14 \pm 12,03$ U/l.

Ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) war zwischen den **Gruppen I und II**, sowie zwischen den **Gruppen II und III** 48 Stunden nach der Transplantation nachweisbar (Abb. 19).

alkalische Phosphatase im Verlauf

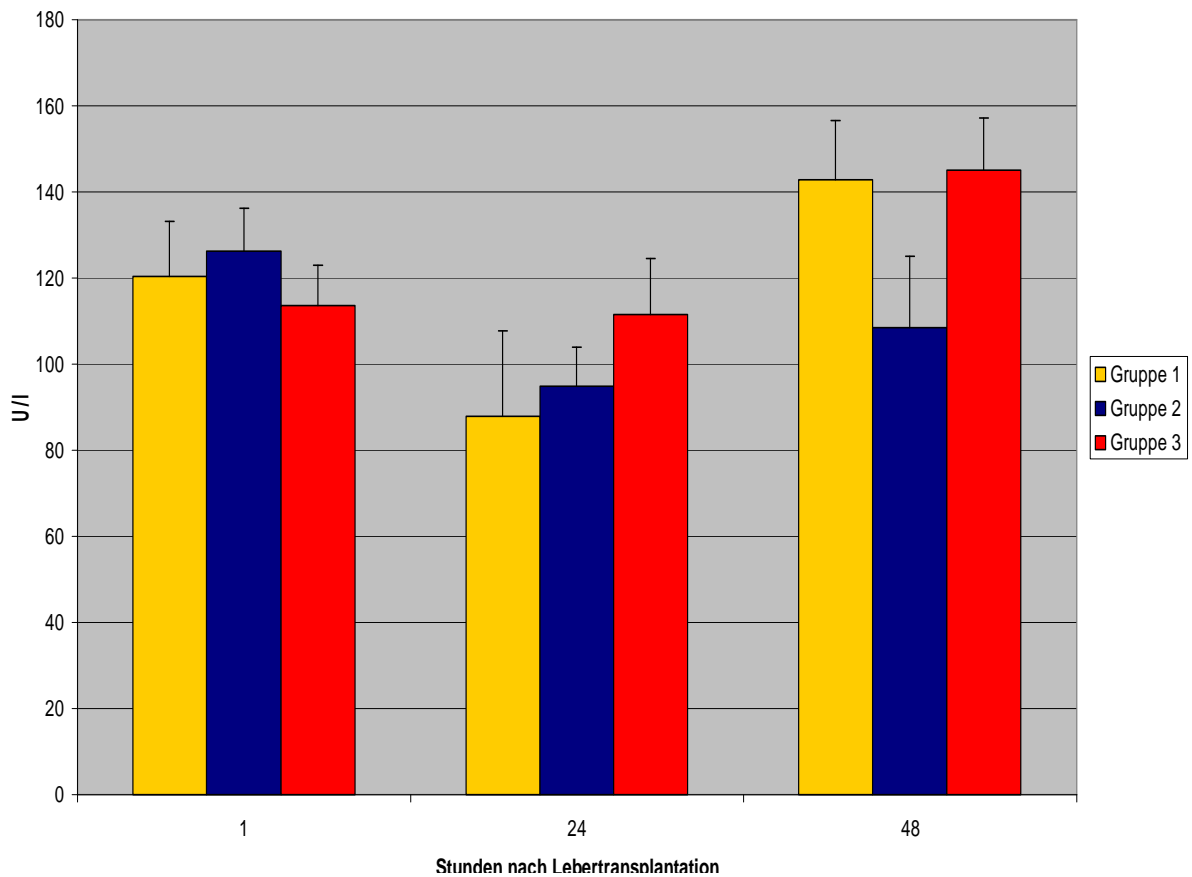


Abbildung 19: Serumaktivität der alkalischen Phosphatase

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

4.3.5 GLDH

Der Anstieg der GLDH-Aktivität war in allen drei Gruppen während der ersten 24 Stunden nach der Transplantation sehr groß. So stieg die Aktivität in der **Gruppe I** von $138,89 \pm 52,55$ U/l auf $975,71 \pm 426,84$. In der **Gruppe II** war der stärkste Anstieg der Aktivität zu verzeichnen. Diese stieg während der ersten 24 Stunden nach der Operation von $180,97 \pm 63,51$ U/l auf $1500,57 \pm 323,75$ U/l. Die Aktivität in der **Gruppe III** stieg während der ersten 24 Stunden von $237,63 \pm 103,84$ U/l auf $610,0 \pm 211,47$ U/l. 48 Stunden nach der Lebertransplantation war die GLDH-Aktivität in allen drei Gruppen wieder abgesunken. Die stärkste Abnahme der Aktivität wurde in der **Gruppe III** gefunden. Die Aktivität sank hier auf $267,81 \pm 66,51$ U/l. In der **Gruppe I** wurde 48 Stunden post operationem noch eine Aktivität von $489,0 \pm 145,96$ U/l gefunden, in der **Gruppe II** noch $921,97 \pm 178,19$ U/l.

Signifikant niedriger ($p < 0,05$) waren hier die Mittelwerte der **Gruppe III** im Vergleich zu denen der **Gruppe II** nach 24 Stunden. Nach 48 Stunden waren sowohl die Aktivitäten der **Gruppen I und III** niedriger als die der **Gruppe II** (Abb. 20).

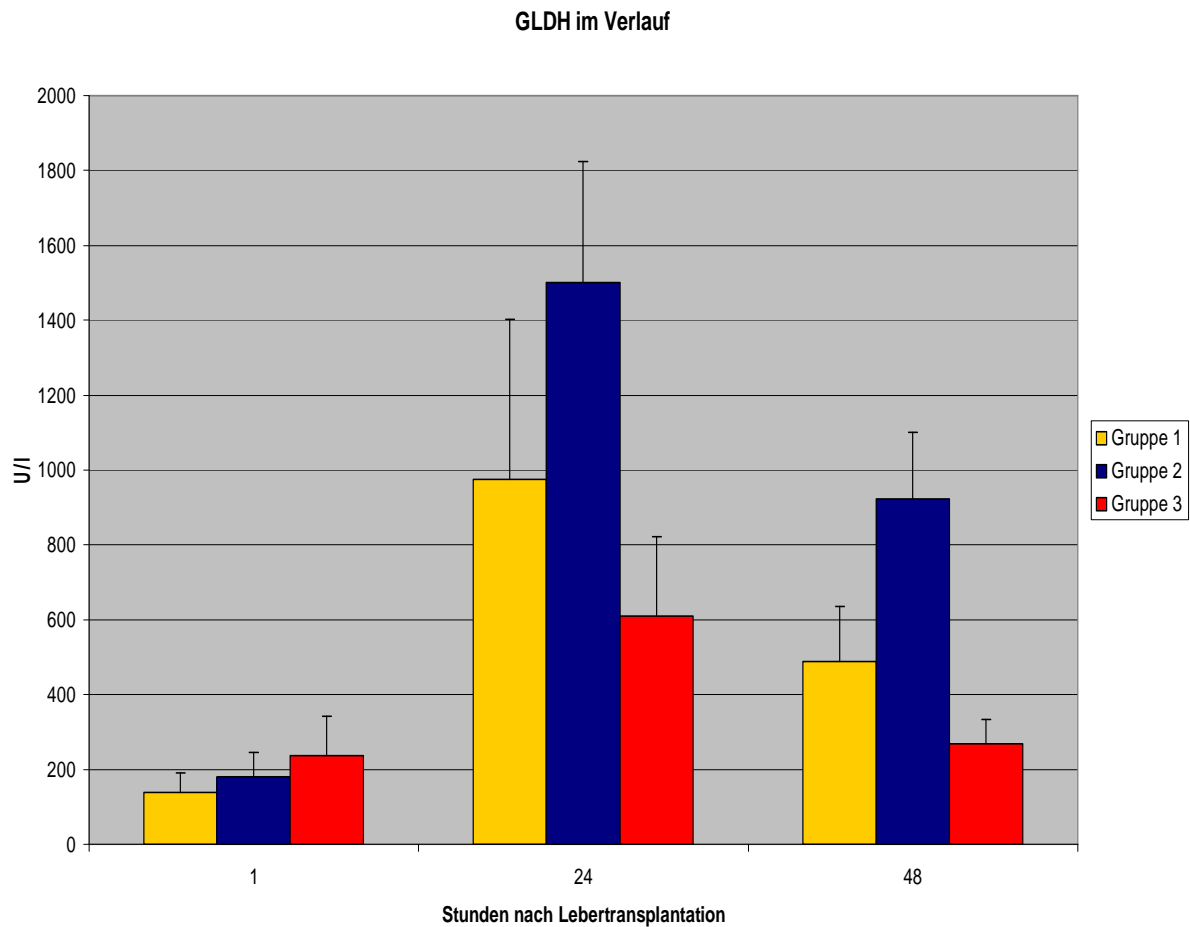


Abbildung 20: Serum GLDH Aktivität

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

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

4.4 Auswertung der Histologie

4.4.1 Nekrosetypen

In der vorliegenden Arbeit wurde zwischen vier verschiedenen Arten von Nekrosen unterschieden:

- Keine Nekrosen
- Einzelzellnekrosen
- Isolierte Nekrosen
- Konfluierende Nekrosen.

Tabelle 2 gibt die Verteilung der verschiedenen Nekrosearten pro Gruppe wieder.

Versuchstier	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
<i>1</i>	<i>3</i>	<i>1</i>	<i>2</i>
<i>2</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>2</i>
<i>3</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>0</i>
<i>4</i>	<i>3</i>	<i>3</i>	<i>0</i>
<i>5</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>3</i>
<i>6</i>	<i>3</i>	<i>2</i>	<i>0</i>
<i>7</i>	<i>3</i>	<i>0</i>	<i>2</i>

Tabelle 2: Verteilung der Nekrosearten pro Gruppe

0= keine Nekrose

1= Einzelzellnekrose

2= Isolierte Nekrose

3= Konfluierende Nekrose

Eine Prozentuale Verteilung der einzelnen Nekrosentypen pro Gruppe ist in Tabelle 3 dargestellt.

Nekroseart	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
<i>keine</i>	0%	14,30%	42,90%
<i>Einzelzelln.</i>	0%	14,30%	0%
<i>isoliert</i>	14,30%	14,30%	42,90%
<i>konfluierend</i>	85,70%	57,10%	14,30%

Tabelle 3: Nekrosentypen pro Gesichtsfeld in Prozent

In einem statistischen Vergleich, welcher eine Verteilung der Nekrosen in Bezug auf deren Ausdehnung zwischen den einzelnen Gruppen untersucht, ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der **Gruppe I** und der **Gruppe III**. Der hierfür ermittelte p-Wert beträgt $p=0,029$. Der Vergleich zwischen den **Gruppen II und III** ($p=0,184$) und den **Gruppen I und II** ($p=0,706$) ergab keine Signifikanz.

4.4.2 Perivaskuläres Ödem

Das Vorkommen eines perivaskulären Ödems wird in Tabelle 4 aufgezeigt.

Versuchstier	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
<i>2</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
<i>3</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
<i>4</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>0</i>
<i>5</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>0</i>
<i>6</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
<i>7</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>

Tabelle 4: Verteilung des perivaskulären Ödems pro Gruppe

0= kein Ödem

1= Ödem

Die Auszählung zeigt hier das Vorkommen eines Ödems in der **Gruppe I** bei 3 Tieren (42,9%), in **Gruppe II** bei 2 Tieren (28,6%) und in der **Gruppe III** bei keinem der Versuchstiere (0%). Jedoch kann hier aufgrund der geringen Fallzahl kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden.

4.4.3 Anzahl der Nekroseherde

Die Anzahl der Nekroseherde im hepatischen Gewebe wurde pro Gesichtsfeld ausgezählt. Hierbei zeigte sich eine signifikant geringere Anzahl in der **Gruppe III** gegenüber den **Gruppen I und II**. Die genaue Verteilung der Nekrosen ist in Tabelle 5 dargestellt.

Versuchstier	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
<i>1</i>	<i>13</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
<i>2</i>	<i>5</i>	<i>11</i>	<i>1</i>
<i>3</i>	<i>29</i>	<i>13</i>	<i>0</i>
<i>4</i>	<i>3</i>	<i>14</i>	<i>0</i>
<i>5</i>	<i>2</i>	<i>11</i>	<i>6</i>
<i>6</i>	<i>9</i>	<i>12</i>	<i>0</i>
<i>7</i>	<i>20</i>	<i>0</i>	<i>1</i>

Tabelle 5: Anzahl der Nekroseherde pro Gesichtsfeld

Im Mittel ergibt sich in der **Gruppe I** eine Anzahl von Nekroseherden von $11,57 \pm 4,97$, in der **Gruppe II** eine Anzahl von $9,0 \pm 2,8$ und in der **Gruppe III** eine Anzahl von $1,57 \pm 1,1$. Signifikanzen ergeben sich zwischen der **Gruppe I** und der **Gruppe III** ($p=0,007$), sowie zwischen der **Gruppe II** und der **Gruppe III** ($p=0,026$) (Abb. 21).

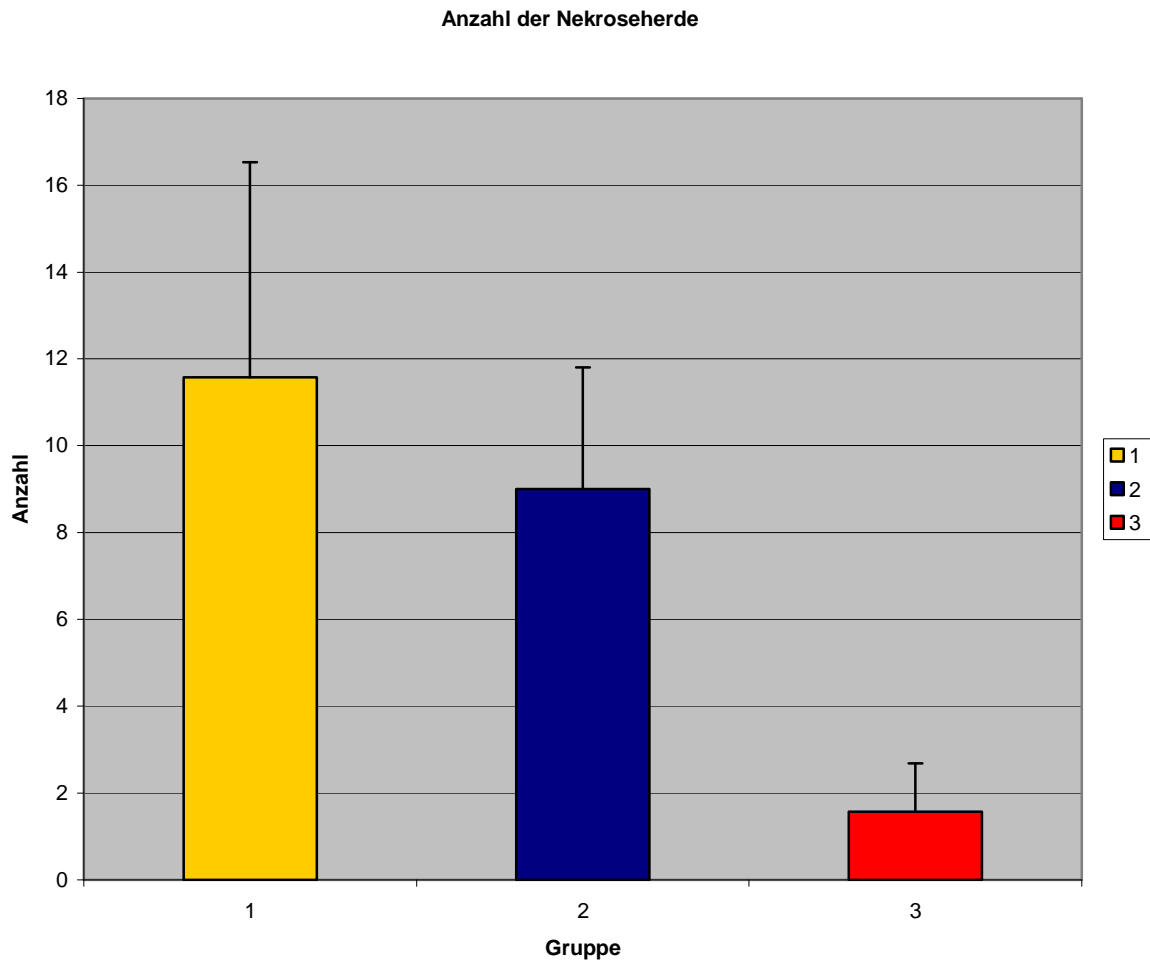


Abbildung 21: Anzahl der nekrotischen Herde pro Gesichtsfeld

Signifikanzen zwischen Gruppe I und Gruppe III: $p=0,007$ und zwischen Gruppe II und Gruppe III: $p= 0,026$.

4.4.4 Minimale Größe der Nekroseherde

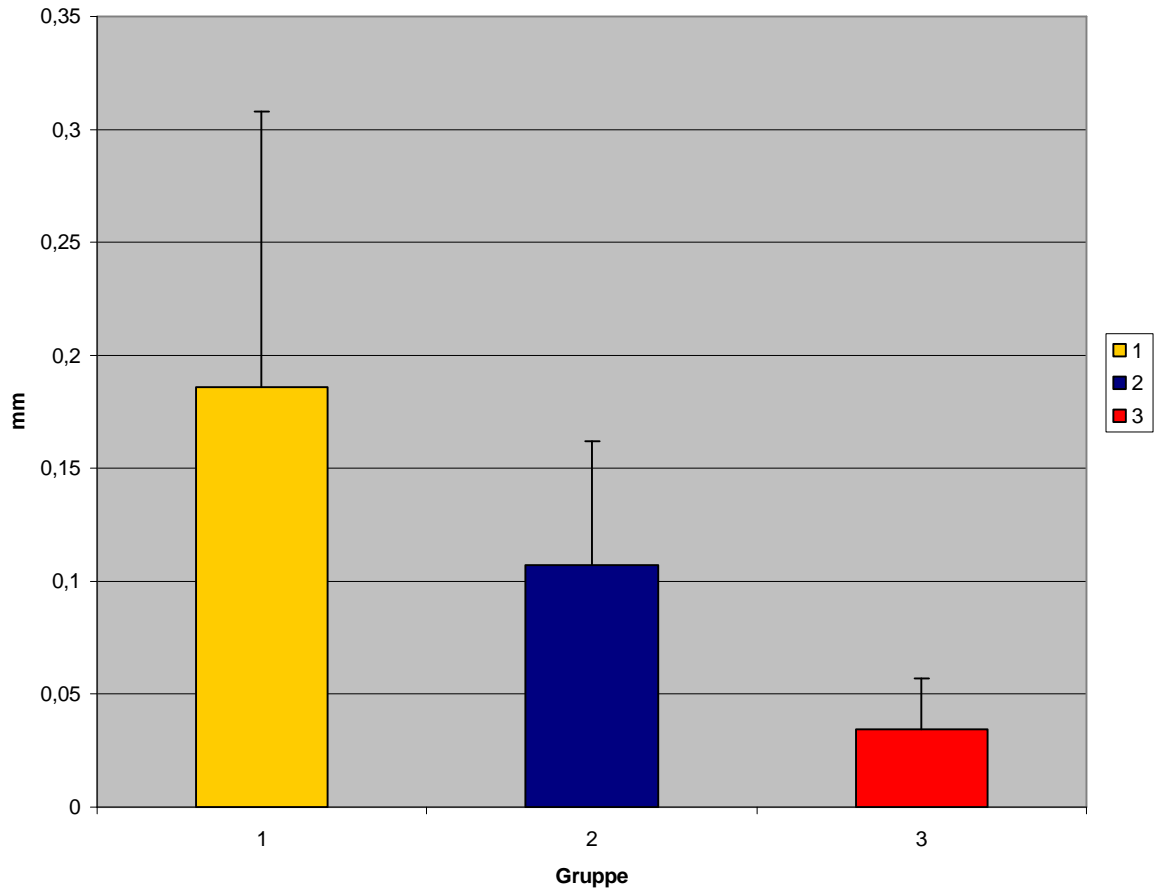
Die durchschnittliche Mindestgröße der im Lebergewebe vorkommenden nekrotischen Herde erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Im Einzelnen gibt Tabelle 6 Auskunft über die Verteilung in den einzelnen Gruppen.

Versuchstier	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
1	0,3	0	0,1
2	0,7	0,1	0,1
3	0,1	0,3	0
4	0,05	0,2	0
5	0,05	0,1	0,02
6	0,05	0,05	0
7	0,05	0	0,02

Tabelle 6: Durchschnittliche, minimale Größe der Nekroseherde in mm

Durchschnittlich betrug die minimale Größe der nekrotischen Herde in **Gruppe I** $0,19 \pm 0,12$ mm, in der **Gruppe II** $0,11 \pm 0,05$ mm und in der **Gruppe III** $0,03 \pm 0,02$ mm (Abb. 22).

min. Größe der Nekrosen



*Abbildung 22: Durchschnittliche Mindestgröße der nekrotischen Herde
Keine Signifikanzen nachweisbar*

4.4.5 Maximale Größe der Nekroseherde

Als wesentlicher Bestandteil der histologischen Auswertung wurde die durchschnittliche Maximalgröße der Nekroseherde bestimmt. Hierbei ergab sich der geringste Wert für die **Gruppe III** (Tabelle 7).

Versuchstier	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
<i>1</i>	<i>4</i>	<i>0</i>	<i>1</i>
<i>2</i>	<i>4</i>	<i>1</i>	<i>0</i>
<i>3</i>	<i>4</i>	<i>3</i>	<i>0</i>
<i>4</i>	<i>2</i>	<i>1,8</i>	<i>0</i>
<i>5</i>	<i>1</i>	<i>9</i>	<i>1,5</i>
<i>6</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>0</i>
<i>7</i>	<i>4</i>	<i>0</i>	<i>0</i>

Tabelle 7: Durchschnittliche, maximale Größe der Nekroseherde in mm

Der durchschnittliche Wert für die maximale Größe der Nekroseherde betrug für die **Gruppe I** $3\pm 0,65$ mm, für die **Gruppe II** $2,4\pm 1,55$ mm und für die **Gruppe III** $0,36\pm 0,31$ mm. Signifikant war hier der Unterschied zwischen der **Gruppe I** und der **Gruppe III** ($p=0,001$). Zwischen der **Gruppe II** und der **Gruppe III** war eine Signifikanztendenz erkennbar ($p=0,073$).

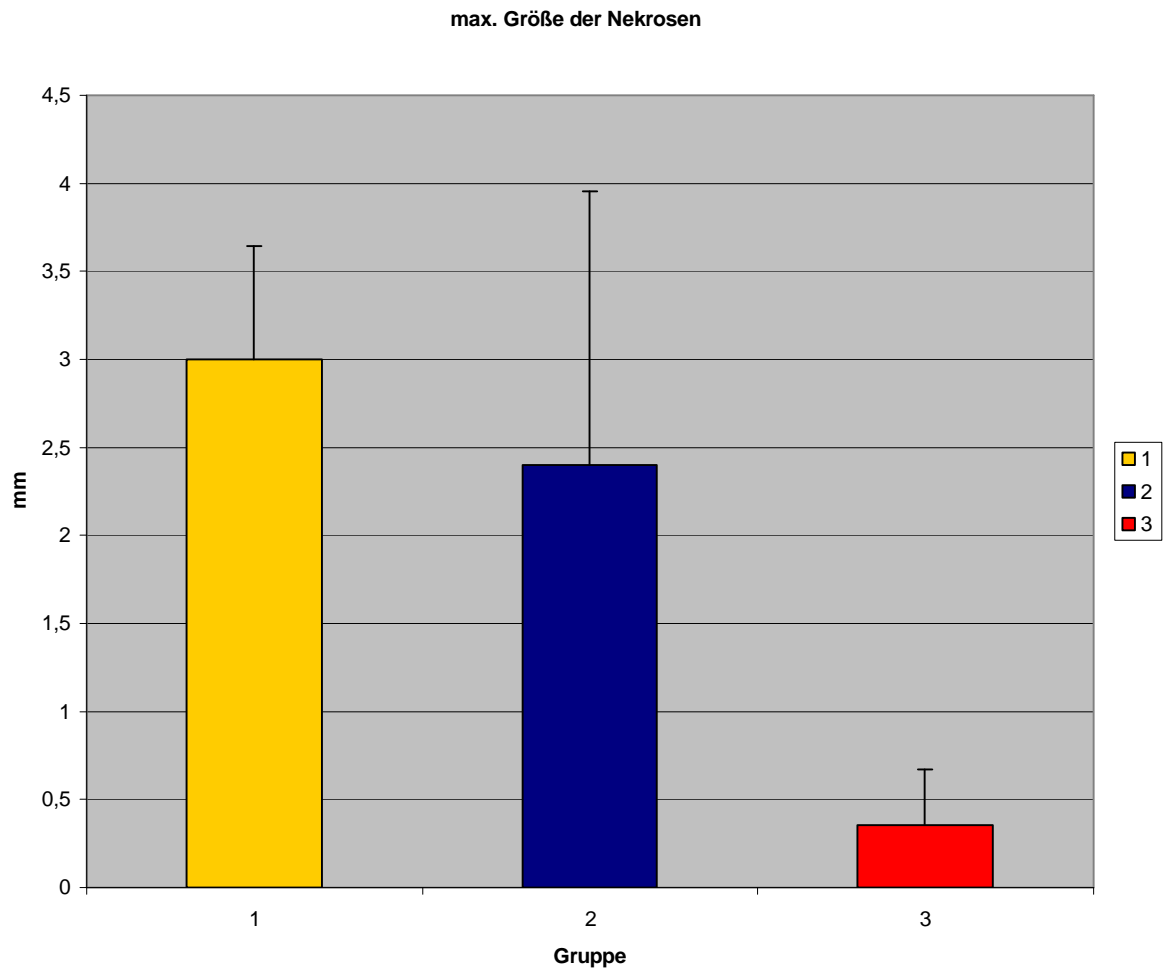


Abbildung23: *Durchschnittliche Maximalgröße der nekrotischen Herde*
Signifikanter Unterschied zwischen Gruppe I und Gruppe III feststellbar ($p=0,001$).

4.4.6 Zonenaufteilung der Nekrosen

Weiterhin wurde in der histologischen Auswertung des Transplantatlebergewebes die Verteilung der Nekrosen zwischen den verschiedenen Zonen eines Leberazinus nach Rappaport untersucht (Tabelle 8)

Versuchstier	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
1	1,2,3	3	3
2	1,2,3	2,3	3
3	1,2,3	1,2,3	0
4	1,2,3	1,2,3	0
5	2,3	1,2,3	2,3
6	1,2,3	2,3	0
7	2,3	0	3

Tabelle 8: Vorkommen von Nekrosen in den einzelnen Zonen der Leberazini

Im Einzelnen zeigt sich hier für die **Zone 1** eine Nekrosehäufigkeit für die **Gruppe I** von 71,4%, für die **Gruppe II** von 42,9 % und für die **Gruppe III** von 0%. Eine Signifikanz ergibt sich zwischen der **Gruppe I** und der **Gruppe III** ($p=0,021$).

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

In **Zone III** konnten in allen Gruppen die größte Häufigkeit eines Nekrosevorkommens festgestellt werden. In **Gruppe I** kam mit einer Häufigkeit von 100% zu einer Nekrose. In **Gruppe II** betrug die Häufigkeit 85,7% und in **Gruppe III** noch 57,1%. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ließen sich hier nicht feststellen.

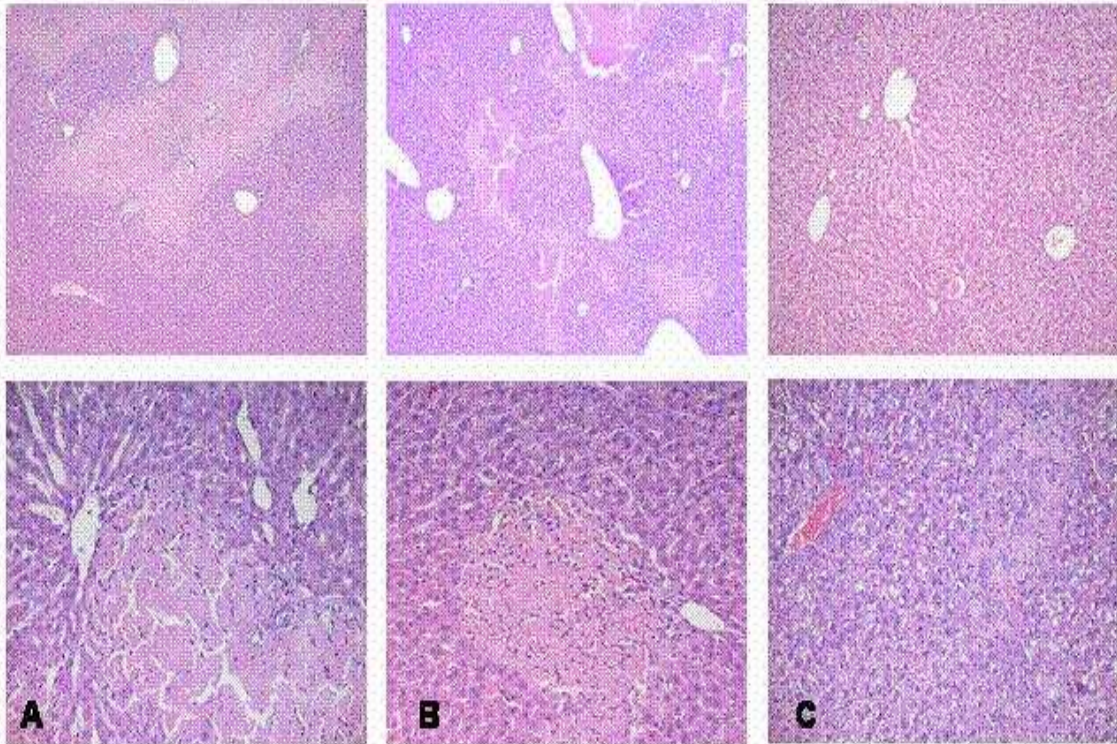


Abbildung 24: Veranschaulichung der Nekroseverteilung zwischen den Gruppen
A=Gruppe I, B=Gruppe II und C=Gruppe III

5 Diskussion

5.1 Problematik des Ischämie-/Reperfusionsschadens bei der Lebertransplantation

Eine der folgenschwersten Komplikationen nach einer Lebertransplantation stellt das primäre Organversagen dar. Nach einer erfolgreichen Lebertransplantation kommt es mit einer Wahrscheinlichkeit von 4,2-8,4% zu einem primären Organversagen, was für den Patienten eine absolut lebensgefährliche Situation darstellt, welche lediglich mit einer Re-Transplantation zu beheben ist (11,80,94,95).

Eine der Hauptursachen für das Versagen einer Leber kurz nach der Transplantation ist der Ischämie-/Reperfusionsschaden. Dieser wiederum ist in seiner Ausprägung von verschiedensten Faktoren wie Dauer der Ischämiezeit, Grad der Leberverfettung und Art der Reperfusion abhängig.

Hauptsächlich sind freie Sauerstoffradikale für die Entstehung eines Ischämie-/Reperfusionsschadens und den daraus folgenden, teilweise erheblichen Leberschaden verantwortlich. Freie Sauerstoffradikale werden nach kalter Ischämie, gefolgt von Reperfusion hauptsächlich von Kuppferzellen, aber auch von Leukozyten und Hepatozyten freigesetzt (51,52,53).

Es wurden in den letzten 20 Jahren zahlreiche Studien mit dem Ziel durchgeführt, den Ischämie-/Reperfusionsschaden nach Lebertransplantation zu verringern. Dabei wurden verschiedene Strategien verfolgt. Im Einzelnen handelt es sich dabei, wie im allgemeinen Teil ausführlich besprochen, um pharmakologische, gentechnologische und chirurgische Strategien.

Besonders kontrovers diskutiert wird nach wie vor, welche Sequenz der Reperfusion den geringsten Ischämie-/Reperfusionsschaden nach sich zieht. Dabei unterscheidet man zwischen initialer portaler Reperfusion, initialer arterieller Reperfusion und synchroner Reperfusion. Während die initiale Reperfusion über die *V. portae* direkt nach Fertigstellung der Gefäßanastomose über einen langen Zeitraum als Goldstandard in der Lebertransplantation gesehen wurde, da dadurch die warme Ischämiezeit des Organs so kurz wie möglich gehalten wird, sind heute auch alternative Reperfuisionsarten in der Praxis gebräuchlich. So konnten

z.B. *P.C.B. Massarollo, S. Mies* und *S. Raia* einen protektiven Effekt der simultanen arteriellen und portal-venösen Reperfusion auf das Gallengangssystem, im Vergleich zur initialen portalen Reperfusion, feststellen (74). Diese Ergebnisse wurden von der Arbeitsgruppe um *Brockmann JG* untermauert, welche einen klaren Vorteil in der Organfunktion simultan reperfundierter Lebern nach Lebertransplantation aufzeigte (13). Auch war in den Ergebnissen dieser Arbeitsgruppe der größte Leberschaden, hervorgerufen durch Ischämie und Reperfusion bei initial arteriell reperfundierten Lebern zu finden. Diese Ergebnisse stehen in Kontrast zu den Ergebnissen der Arbeitsgruppe um *van As AB*, welche einen geringeren Leberschaden nach initial arterieller Reperfusion zeigte, verglichen mit initial portaler Reperfusion (128). Eine weitere Arbeitsgruppe, welche von *Polak WG* geleitet wurde, konnte weder einen signifikanten Vorteil für die primär portale Reperfusion, noch für die simultane Reperfusion feststellen (93).

Neben den oben genannten Möglichkeiten der Reperfusion wurde in den letzten Jahren eine neue Reperfuionsvariante publiziert, die sich von den bisher genannten durch die initiale Flussrichtung des Blutes durch die Leber unterscheidet. Dabei wird der Blutstrom durch die Leber schon nach Fertigstellung der Anastomose zwischen *V. cava inferior* und Lebervenen bei der Piggy-Back-Technik freigegeben, was zu einer langsamen, retrograden Reperfusion der Leber mit cavalem Blut führt (65). In mehreren retrospektiven klinischen Studien konnte ein Vorteil dieser Reperfusionstechnik gegenüber der klassischen initial portalen Reperfusion, sowie gegenüber der simultanen Reperfusion gezeigt werden (29,48).

Es existiert also eine Vielfalt von Studien zu den unterschiedlichen Arten der Reperfusion, welche die unterschiedlichsten Ergebnisse aufweisen. Weiterhin existiert allerdings keine tierexperimentelle Studie, welche unter standardisierten Rahmenbedingungen die retrograde Reperfusion mit anderen Arten der Reperfusion vergleicht.

Daher war das Ziel dieser tierexperimentellen Studie den vermeintlichen Vorteil der retrograden Reperfusion nach orthotoper Lebertransplantation unter standardisierten Bedingungen zu evaluieren.

5.2 Die Ratte als Versuchstier

Bei der Entstehung des Ischämie-/Reperfusionsschadens spielen eine große Anzahl verschiedenster Faktoren eine entscheidende Rolle. Bei der humanen Lebertransplantation sind diese Faktoren nur schwer beeinflussbar. So spielen z.B. das Alter von Spender und Empfänger, die Zeit, die ein Spender auf der Intensivstation verbracht hat und die Medikation, die dieser bekommen hat eine entscheidende Rolle für das Ergebnis einer Lebertransplantation. Auch ist die Lebensführung, die ein Spender hatte wesentlich an der Qualität seiner Organe beteiligt. Im Gegensatz zur klinischen Situation können die Versuchsbedingungen im Tiermodell konstant gehalten werden, so dass der Fokus auf einen bestimmten Parameter, in diese Arbeit ist es der Ischämie-/Reperfusionsschaden, konzentriert werden kann.

Die Entscheidung für die Ratte als Versuchsobjekt wurde in dieser Studie aus mehreren Gründen getroffen. Zum einen stellt die Unterbringung auch einer großen Anzahl von Ratten kein wesentliches Problem dar und die Pflege dieser Tiere ist unkompliziert. Ein weiterer wichtiger Vorteil der Ratte ist die ständige Verfügbarkeit großer Mengen von Tieren mit demselben Alter und Gewicht. Auch ist die Ratte wesentlich preisgünstiger als andere Versuchstiere wie z.B. Schweine oder Hunde.

Für die experimentelle Chirurgie eignen sich Ratten ausgezeichnet aufgrund ihrer, auch für aufwendige Operationen, ausreichenden Größe. Während einer tierexperimentellen Operation ist die Wahrung von Sterilität, wie es während einer Operation im klinischen Alltag Standard ist, nur sehr schwer möglich. Aus dieser Problematik ergibt sich ein erneuter Vorteil der Ratte als Versuchstier, da für das Überleben des Tieres Sterilität nicht zwingend notwendig ist. Auch sind Ratten gegenüber einem hohen Blutverlust sehr resistent. Aufgrund der geringen Größe der Rattenleber wird diese während der Perfusion in der Spenderoperation schnell abgekühlt, so dass keine langen Zeiten warmer Ischämie entstehen.

Für diese Studie war weiterhin die Existenz von Inzuchtstämmen mit genau bekannten Gewebsantigenen bei der Ratte ein wesentliches Kriterium für die Entscheidung für dieses Versuchstier. Bei der Ratte existieren ein MHC (=RT1)-System, sowie mehrere nicht-MHC Systeme. Das RT1-System beinhaltet drei verschiedene Subloci, A, B und C. Der Sublocus A codiert für Klasse I-Antigene, welche auf allen Körperzellen der Ratte gefunden werden können. Der Sublocus B codiert für Klasse II-Antigene, die vor allen Dingen auf B-Lymphozyten und Makrophagen exprimiert sind. Der Sublocus C codiert für Klasse I-

Antigen ähnliche Genprodukte, die nur auf Lymphozyten gefunden werden. Auf die nicht-MHC-Systeme soll hier nicht weiter eingegangen werden.

Bei der genetischen Identität von Spender und Empfänger, wie es bei der Verwendung der LEWIS-Ratte als Versuchstier der Fall ist, spricht man von einer syngenen Kombination. Allereaktionen gegen Transplantationsantigene treten hier nicht auf. Somit ist es möglich, nach erfolgter Lebertransplantation isoliert den Ischämie-/Reperfusionsschaden zu beurteilen (67).

5.3 Vergleich verschiedener Lebertransplantationsmodelle

Wie bereits im Allgemeinen Teil beschrieben, existiert eine Vielzahl von Lebertransplantationsmodellen in der Ratte. Das ursprüngliche Modell, welches *Lee* im Jahre 1973 publizierte, orientierte sich weitgehend an der Anatomie der Ratte und hatte die exakte Rekonstruktion selbiger zum Ziel (67). Weitere Modelle zur Transplantation, wie z.B. das von *Kamada* und *Calne* 1979 veröffentlichte, verzichtete auf die Arterialisierung sowie auf eine weitgehend physiologische Gefäßanastomosierung zu Gunsten einer Vereinfachung der Methode (57). Trotz der fehlenden Leberarterie überlebten 95,3 % der Tiere.

Dennoch wurde für die, dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie ein arterialisiertes Lebertransplantationsmodell gewählt, da neuere Veröffentlichungen zeigen konnten, dass die Arterialisierung der Leber für deren einwandfreie Funktion von großer Wichtigkeit ist (37).

Das arterielle Blut aus der Leberarterie hat Einfluss auf die:

- Sauerstoffversorgung (96)
- Mikrozirkulation (96)
- Abstoßungsreaktion (41)
- initiale Transplantatfunktion (96)
- Transplantatmorphologie (34)
- Komplikationen der Gallengänge (50)
- Überlebensrate (40)

Bisher wurde eine Vielzahl von Techniken zur Fertigung der Anastomose der Leberarterie publiziert. Im Einzelnen handelt es sich hierbei um die *mikrochirurgische Naht* (67), die *Cuff-Technik* (57), die *Teleskop-Technik* (59) und die *Splint-Technik* (138). In der Vorliegenden

Studie wurde die *Splint-Technik* zur Arterialisierung der Leber verwendet, da eine sehr schnelle Durchführbarkeit dieses Operationsschrittes von enormer Wichtigkeit für die Vergleichbarkeit der drei Gruppen war. So betrug die Zeit zur Fertigstellung der arteriellen Anastomose, welche nach den Anastomosen von *suprahepatischer V. cava* und *V. portae* durchgeführt wurde lediglich 25-30 Sekunden.

Für die Durchführung der Anastomosen von *infra-* und *suprahepatischer V. cava* und *V. portae* stehen zwei Methoden zur Auswahl: die *Cuff-Technik* und die *mikrochirurgische Naht*. Beide Methoden haben spezifische Vor- und Nachteile. Der größte Vorteil der *Cuff-Technik* ist ohne Zweifel der Zeitgewinn, welchen man durch diese Technik erzielt. Als *N. Kamada* 1979 die *Cuff-Technik* einführte, konnte er die anhepatische Phase auf 15-17 Minuten verkürzen (58). Die Anastomose der *suprahepatischen V. cava* in Cuff-Technik, wie sie von *M. Miyata* publiziert wurde, konnte sich auf Dauer nicht durchsetzen (77). Es konnte sogar gezeigt werden, dass dieser Cuff zu Leberabflussstörungen und somit zum Leberschaden und zum frühen Tod der Empfängerratte führt (117). Werden *V. portae* und *infrahepatische V. cava* mit einem Cuff anastomosiert, kann es dabei zu einer Fremdkörperreaktion und damit zu einer Bindegewebsbildung kommen. Zweitere führt ihrerseits zu einer Stenosierung der Anastomose, was zu einer portalen Hypertension und einer Bildung von Kollateralvenen führt (62).

Eine Stenosierung durch eine Fremdkörperreaktion ist bei der *mikrochirurgischen Naht* der Anastomosen nicht zu befürchten. Allerdings kann es hier zu einer mechanischen Stenose durch zu starken Zug am Faden kommen. Dieses zu vermeiden, sowie die Durchführung der Anastomosen von *suprahepatischer V. cava* und der *V. portae* unter der kritischen Grenze von 25 Minuten erfordert viel Übung des Operateurs. Da in der humanen Lebertransplantation eine Anastomosierung nur mittels Naht durchgeführt wird, ist die Technik der mikrochirurgischen Naht an der Ratte realitätsnäher.

Aufgrund der Realitätsnähe der mikrochirurgischen Gefäßnaht und dem Zeitvorteil, den die arterielle Rekonstruktion mittels *Splint-Technik* gegenüber anderen arteriellen Rekonstruktionsmöglichkeiten bietet, entschlossen wir uns, für diese Studie eine orthotope Rattenlebertransplantation mit mikrochirurgischen venösen Gefäßanastomosen und arteriellen, sowie biliären Splint-Anastomosen durchzuführen.

Die Zeitspanne zwischen der Explantation der Eigenleber beim Empfängertier und der Reperfusion war durch die verwendete Technik in allen drei Gruppen identisch. Dies ermöglichte einen direkten Vergleich der drei Gruppen und insbesondere einen direkten Vergleich von antegrader Reperfusion mit der retrograden Reperfusion.

5.4 Intra- und postoperative Komplikationen

5.4.1 Komplikationen hervorgerufen durch die Narkose

Die Isofluran-Anästhesie stellt eine sehr komplikationsarme Form der Narkose dar. Für die Langzeitanästhesie bei der Ratte ist sie aus mehreren Gründen ein sehr attraktives Modell. So ist die Isofluran-Narkose aufgrund des günstigen Blut-Gas-Verteilungskoeffizienten von Isofluran ($\lambda=1,4$) sehr gut steuerbar. Auch wirkt Isofluran bronchodilatatorisch, was eine gute Oxigenierung des Organismus der Ratte unterstützt. Entscheidendes Kriterium für die Narkose mit Isofluran in dieser Studie war die fehlende Hepatotoxizität von Isofluran gegenüber anderen Anästhetika.

Allerdings birgt die Verwendung von Isofluran als Anästhetikum die Gefahr der Atem- und Kreislaufdepression. Nicht selten kann es so zu einer gefährlichen Hypoxämie, gefolgt von Atemstillstand kommen. Auch bewirkt Isofluran eine Myokarddepression, was hauptsächlich in der, für das Herz der Ratte extrem belastenden anhepatischen Phase von Belang ist (60,100).

5.4.2 Komplikationen bei der Präparation des Spenders

Gleich zu Beginn der Spenderoperation wurde die linke *V. phrenica* dargestellt und von der *V.cava* aus wenige Millimeter in ihrem Verlauf zirkulär freipräpariert. Dabei kann es zu einer Ruptur des Gefäßes kommen, was zu einer schwer beherrschbaren Blutung führt. Nach Auftreten dieser Komplikation ist eine erfolgreiche Leberexplantation nach unseren Erfahrungen in der Regel nicht mehr möglich.

Nach der Präparation des Gallengangs wurde dieser leberfern inzidiert und mit einem Splint versorgt. Dabei besteht die Gefahr, den Splint zu weit in den Gallengang vorzuschieben und somit die Gallendrainage eines oder mehrerer Leberlappen zu Verlegen. Außerdem besteht die Gefahr, den Gallengang in seiner gesamten Länge zu inzidieren, wenn der Splint an seinem Ende kleinste Stufen, hervorgerufen durch unsaubere Anfertigung, aufweist.

Während der Perfusion kann es dazu kommen, dass ein oder mehrere Leberlappen nicht, oder nur unzureichend perfundiert werden. Der Grund dafür liegt meistens in einer Torsion dieser Leberlappen. Besteht diese Torsion bereits über einen längeren Zeitraum, ist eine vollständige Perfusion dieses Leberlappens nicht mehr möglich, weswegen eine derart geschädigte Leber nicht mehr für die experimentelle Transplantation infrage kommt.

5.4.3 Komplikationen bei der Lebertransplantation

Die Komplikationen bei der Präparation des Empfängers waren weitgehend dieselben wie die bei der Spenderoperation.

Weitere Komplikationen können während der Durchführung der Gefäßanastomosen in mikrochirurgischer Nahttechnik entstehen. Zum einen kommt es bei nicht exakt orthotoper Platzierung des Spenderorgans im Empfängersitus zu großen Zugkräften an bereits vernähten Gefäßbezirken, was an diesen Stellen zum Einreißen dieser Bezirke führen kann. Auch ist eine Gefäßanastomose, die in fortlaufender Nahttechnik durchgeführt wurde derart gefährdet, dass durch zu starken Zug am freien Fadenende eine Stenosierung des Gefäßes auftritt. Eine Stenosierung kann weiterhin durch einen Gefäßspasmus hervorgerufen werden. Dieser ist allerdings in den meisten Fällen früh reversibel. Teilweise kommt es nach der Eröffnung eines anastomosierten Gefäßes zur Entstehung einer Thrombose im Anastomosenbereich. Dieses kann allerdings durch Spülen der Anastomose mit einer heparinisierten NaCl-Lösung vor dem Setzen des letzten Stiches der Naht und der Eröffnung des Gefäßes vermieden werden. Dieses Spülen der Anastomose sollte auch deswegen durchgeführt werden, da es sonst leicht zu einer Luftembolie durch im Lumen verbleibende Luft kommen kann. Wie bereits oben erwähnt, ist die Zeit, in der die Anastomosen angefertigt werden begrenzt. Die anhepatische Phase wird von der Ratte nicht länger als 25 Minuten toleriert (33). Dies liegt daran, dass einerseits das Herzminutenvolumen der Empfängerratte in der anhepatischen Phase durch den Verschluss der *V. portae* und der *V. cava inferior* massiv absinkt und andererseits durch den Blutstau im Splanchnikusgebiet und in den Nierenvenen ein Schock hervorgerufen wird, den das Tier nach unseren Erfahrungen nicht länger als 25 Minuten überlebt. Nach Anfertigung der Gefäßanastomosen und deren Wiedereröffnung kann es zu Blutungen aus diesen Bereichen kommen. Eine solche Blutung kann oftmals durch leichte Kompression gestillt werden. Ist dies nicht der Fall, kann versucht werden, den lecken Bereich zu übernähen. Allerdings ist dieses nur in seltenen Fällen ohne erheblichen Blutverlust möglich.

Eine besondere Komplikation kann beim Abklemmen der *suprahepatischen V. cava* durch die Satinski-Klemme entstehen. Diese kann durch Reizung des *N. phrenicus* einen Atemstillstand hervorrufen. Dieser ist nach unseren Erfahrungen allerdings wieder reversibel, verringert man den Druck auf den Nerven, indem man die Klemme ein wenig löst.

In dieser Studie wurde für die Anastomosierung der Gallengänge von Spender und Empfänger die 1979 von *Zimmermann* eingeführte *Splint-Technik* verwendet (138). Diese Methode ist praktikabel und arm an Komplikationen. Außer der fehlenden Drainage einzelner Leberlappen

bei zu weitem Hineinschieben des Splints in den Spender ist für einen Zeitraum von mehreren Wochen nicht mit sonstigen Komplikationen zu rechnen.

5.5 Aussagekraft der Laborwerte

Das Organ, dessen Schaden im Rahmen dieser Studie untersucht worden ist, ist die Leber. Die gängigen Parameter, um einen Leberschaden über Serumwerte abschätzen zu können sind besonders die GOT und GPT, sowie alkalische Phosphatase, Bilirubin und die GLDH. Diese Laborwerte stellen einen Standard in der Abschätzung eines Leberschadens dar (21,89).

Die GOT stellt dabei ein Enzym dar, welches hauptsächlich in der Leber vorkommt und dort die größte Konzentration in den Mitochondrien aufweist. Allerdings kommt sie auch in größeren Konzentrationen in Herz und Skelettmuskel vor.

Die GPT hingegen ist überwiegend in der Leber lokalisiert und zeigt ihre größten Konzentrationen im Cytoplasma der Hepatozyten. Daraus folgt, dass bereits ein geringer Leberschaden zu einer Erhöhung der GPT führen kann, während die GOT noch im Normbereich steht.

Die Bestimmung der alkalischen Phosphatase wird hauptsächlich für die Diagnostik von Knochenerkrankungen durchgeführt. Allerdings ist die alkalische Phosphatase auch ein aussagekräftiger Cholestaseparameter und ist bei 60% der hepatobiliären Erkrankungen erhöht. Aus diesem Grund sollte sie nicht bei einer kompletten Leberdiagnostik fehlen.

Bilirubin ist ein Produkt aus dem körpereigenen Abbau von Hämoglobin. Es fällt im Körper primär als wasserunlösliches, „indirektes“ Bilirubin an, welches an Albumin gebunden zur Leber transportiert wird. Dort geschieht die Glukuronidierung zu wasserlöslichem, „direktem“ Bilirubin. Liegt ein erhöhter Gesamtbilirubinwert im Serum vor und kann ein prähepatischer Ikterus, sowie ein Verschluss der posthepatischen Gallenwege ausgeschlossen werden, spricht der erhöhte Wert für das Vorliegen einer Leberfunktionsstörung. Für die Entstehung eines prähepatischen Ikterus gab es im Kollektiv der Versuchstiere in dieser Studie keinen Anhalt. Ein Verschluss der posthepatischen Gallenwege wurde bei der Sektion des Tieres 48 h nach der Operation anhand des makroskopischen Aspektes der Leber und des Gallengangssplintes ausgeschlossen.

Die höchste Aktivität der GLDH findet sich überwiegend in den Mitochondrien von Hepatozyten und hier hauptsächlich in zentroazinären Zellen. Daraus folgt, dass hohe GLDH Werte mit einer tiefgreifenden Zerstörung von Leberzellen einhergehen.

5.6 Interpretation der Ergebnisse

Der Ischämie-/Reperfusionsschaden stellt ein bereits seit langem bekanntes Phänomen dar, welches sowohl bei der Transplantation solider Organe als auch im Rahmen von Organischämien, wie sie z.B. bei Operationen vorkommen, beobachtet wird. Über eine Reihe von zellulären und extrazellulären Mechanismen führt der Ischämie-/Reperfusionsschaden zu einer Schädigung des betroffenen Organs.

In der vorliegenden Studie wurden LEWIS Ratten als Versuchstiere verwendet. Durch die Syngenetität dieser Tiere ist davon auszugehen, dass sich der Schaden, den eine Transplantatleber im Laufe der Transplantation nimmt, sich lediglich in der Ausprägung des Ischämie-/Reperfusionsschadens von dem Schaden anderer Transplantatlebern unterscheidet, da alle für das Organ schädigenden Faktoren zwischen den unterschiedlichen Gruppen identisch waren. Schädigende Faktoren waren z.B. die kalte Ischämiezeit, die langsame Wiedererwärmungszeit während der Transplantation und die Manipulationen an der Spenderleber im Laufe von Explantation und Transplantation.

Die Ausprägung des Leberschadens und somit die Ausprägung des Ischämie-/Reperfusionsschadens wurde hier anhand der oben genannten Laborparameter 1, 24 und 48 Stunden nach der Operation und anhand der 48 Stunden nach der Operation gewonnenen Histologie bestimmt. Dabei zeigte sich bei allen drei Gruppen eine Stunde nach der Operation ein erheblicher Leberschaden. Dieser wurde besonders anhand der Transaminasen sichtbar, welche sich eine Stunde nach der Transplantation in einem Maximum befanden. Lediglich in der **Gruppe II** stieg die GOT bis zur 24. Stunde nach der Lebertransplantation an, was für einen tiefgreifenden Leberzellschaden in dieser Gruppe spricht. Allerdings kann die GOT aufgrund ihres Vorkommens in anderen Organen, wie z.B. Herz, Skelettmuskel und Gehirn durchaus nicht als leberspezifisch angesehen werden. Somit kann ein alleiniger Anstieg der GOT, ohne gleichzeitigen Anstieg, oder sogar Abfall der GPT auch ein Zeichen für eine andersartig bedingte Pathologie sein, wie z.B. einen Schaden größerer Muskulaturanteile nach einer Operation.

Die GLDH war in allen drei Gruppen eine Stunde nach der Transplantation auf ihrem Tiefststand und erreichte erst innerhalb der ersten 24 Stunden ihre maximalen Werte. Dies spricht offensichtlich am ehesten dafür, dass sich ein Leberzellschaden nicht nur in der Zeit der kalten Ischämie, sondern viel mehr auch im weiteren Verlauf nach Lebertransplantation als Folge der Reperfusion und der daraus resultierenden schädigenden Mechanismen entwickelte. Während die Transaminasen, bis auf die GOT in **Gruppe II** schon 24 Stunden

nach der Lebertransplantation abgefallen waren und bis zur 48. Stunde weiter abfielen, begann sich die Serumaktivität der GLDH erst nach 24 Stunden zu verringern. Dies kann durchaus als Zeichen dafür interpretiert werden, dass nach ca. 24 Stunden die „akute Phase“ des Ischämie-/Reperfusionsschadens vorüber ist, zumal sich die Transaminasen zwischen der 24. und 48. Stunde rapide verbesserten. Ein ähnlicher Verlauf von Transaminasen und GLDH konnte auch von der Arbeitsgruppe um *Heidenhain C* in einer klinischen Studie zur retrograden Reperfusion festgestellt werden (48). Der günstige Verlauf der Transaminasen konnte weiterhin auch von der Gruppe um *Tscheliessnigg K.-H.* nachgewiesen werden. Auch konnte diese Gruppe einen direkten Vorteil der retrograden Reperfusion gegenüber der Kontrollgruppe, welche initial portal reperfundiert wurde, in Bezug auf die Syntheseleistung der Leber anhand von Prothrombinzeit und Antithrombin III feststellen (64).

Im Gegensatz zu diesen erfreulichen Ergebnissen steht das erhöhte Auftreten von Komplikationen der Gallenwege nach retrograder Reperfusion in einer klinischen Studie (48). Um den Leberzellschaden, der nach einer Lebertransplantation auftritt zu objektivieren, wurde in dieser Studie das Gewebe der transplantierten Lebern, welche 48 Stunden nach der Transplantation entnommen wurden, histologisch untersucht. Besonderes Augenmerk wurde in der histologischen Begutachtung auf den Nekrosenachweis gesetzt. Die Entstehung einer Nekrose durch den Ischämie-/Reperfusionsschaden kann auf unterschiedliche Weise geschehen. So kommt es durch den Ischämie-/Reperfusionsschaden zu einer Schädigung des Gefäßendothels, was zu Mikrozirkulationsstörungen und somit zu einer Gewebephypoxie führt (16,76). Ein weiterer Entstehungsmechanismus einer Nekrose durch den Ischämie-/Reperfusionsschaden ist der direkte zytotoxische Effekt von freien Sauerstoffradikalen auf parenchymatöse Zellen der Leber. Aber auch neutrophile Granulozyten, genauso wie T-Lymphozyten führen nach Aktivierung und Extravasation zu einem Untergang von Leberzellen. Vereinfacht kann man davon ausgehen, dass je ausgeprägter der Schaden, hervorgerufen durch kalte Ischämie ist, sich umso mehr und größere, also ausgeprägtere Nekroseherde finden.

In der vorliegenden Studie konnten die größten Nekroseformationen in der **Gruppe I** gefunden werden und waren sogar signifikant größer als die Nekroseformationen in der **Gruppe III**. Zusammen mit der Auszählung der Nekroseherde, welche in der **Gruppe III**, also der retrograd reperfundierten Gruppe, verglichen mit den beiden anderen Gruppen eine signifikant geringere Anzahl zeigte, kann man von einer geringeren Ausprägung des Ischämie-/Reperfusionsschadens in der **Gruppe III** ausgehen. Auch wird diese These von der Tatsache untermauert, dass die maximale Größe der Nekroseherde in **Gruppe III** signifikant

geringer war als in **Gruppe I** und tendenziell geringer als in der **Gruppe II**. Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass in der Versuchsgruppe, in der die Transplantatlebern initial retrograd reperfundiert wurden die Nekrosen seltener vorkamen und kleiner waren als in den beiden übrigen Gruppen, die anterograd reperfundiert wurden.

Eine weitere wichtige Frage ist diejenige nach der zonalen Verteilung der Nekrosen. Als Bezugsformation wurde der Leberazinus nach Rappaport gewählt. Hierbei bilden die terminalen Arteriolen von Pfortader und Leberarterie eine von Leberzellen umgebene Achse. Das in den Azinus gelangende Blut aus Vene und Arterie fließt dann von dieser Achse zu den *Vv. centrales*, wobei es drei verschiedene Zonen durchfließt. Die Zellen der einzelnen Zonen haben, wie bereits im Allgemeinen Teil besprochen verschiedene Spezialisierungen in Bezug auf den Stoffwechsel. Ein weiterer wichtiger Aspekt der Zoneneinteilung nach Rappaport ist der absteigende Sauerstoff- und Nährstoffgehalt des Blutes entlang der Strecke durch die drei Zonen. Diese nehmen von der Zone 1 (peripher) bis zur Zone 3 (zentralvenennah) kontinuierlich ab. Daraus ergibt sich, dass die Zellen der Zone 3 am vulnerabelsten für eine Hypoxie oder einen Nährstoffmangel sind.

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass es nach einer Lebertransplantation in der Ratte bei der Verwendung der retrograden Reperfusion signifikant seltener zu einer Nekrose in den Zonen 1 und 2 kommt, als nach Lebertransplantation mit initial portaler, anterograder Reperfusion. Ein essentielles Element des Ischämie-/Reperfusionsschadens ist die Mikrozirkulationsstörung. Je ausgeprägter ein Ischämie-/Reperfusionsschaden im Gewebe stattfindet, desto stärker ausgeprägt ist auch die Mikrozirkulationsstörung und desto geringer das Sauerstoffangebot in den Zonen 1 bis 3, was eine vermehrte Hypoxie in den Leberzellen in Zentralvenennähe bedeutet. Je größer also der Ischämie-/Reperfusionsschaden, desto weiter wandert die Gewebshypoxie mit ihrer begleitenden Gewebnekrose von der Leberazinus-Zone 3 in Richtung Zone 1. In Zusammenschau mit den hier gewonnenen Ergebnissen kann von einem geringeren Ischämie-/Reperfusionsschaden nach retrograder Reperfusion ausgegangen werden.

Mit Hilfe der Ergebnisse, welche in dieser Studie gewonnen wurden können folgende Schlüsse gezogen werden:

- Die Lebertransplantation mit retrograder Reperfusion ist an der Ratte standardisiert durchführbar.
- Laborchemisch ist der Leberschaden nach einer Rattenlebertransplantation signifikant geringer, wenn die Technik der retrograden Reperfusion zum Einsatz kommt, als nach antegraden Reperfusion.
- Achtundvierzig Stunden nach einer Rattenlebertransplantation kann histologisch eine geringere Ausprägung eines Leberschadens bei retrograd reperfundierten Transplantatlebern gefunden werden, verglichen mit antegrad reperfundierten Transplantatlebern.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen unter standardisierten Bedingungen einen deutlichen Vorteil der retrograden Reperfusion bei der Lebertransplantation verglichen mit der antegraden Reperfusion in der Ratte. Es erscheint anhand dieser Ergebnisse sinnvoll, die retrograde Reperfusion auch in der klinischen Lebertransplantation weiter zu evaluieren.

6 Zusammenfassung

Die Lebertransplantation ist heute eine Standardtherapie in der Behandlung von Lebererkrankungen, welche mit einem Organversagen einhergehen. Trotz ihrer Stellung als Standardverfahren ist die Lebertransplantation noch immer mit einer Reihe von Risiken behaftet. Eine der schwerwiegendsten Komplikationen der Lebertransplantation ist das primäre Organversagen. Hierbei kommt es kurze Zeit nach der Transplantation zu einem Leberausfall, welcher mit einer hohen Mortalität einhergeht.

Einer der Hauptrisikofaktoren für die Entstehung eines primären Organversagens ist der Ischämie-/Reperfusionsschaden. Dieser ist als ein multifaktorielles Ereignis zu verstehen, bei dessen Entstehung eine Vielzahl von Faktoren beteiligt sind. Besonders anfällig für einen Schaden durch Ischämie und darauf folgende Reperfusion sind Lebern mit einem hohen Grad an Verfettung. Aufgrund der vorherrschenden Organknappheit werden allerdings immer mehr Fettlebern zur Lebertransplantation angenommen. Dies unterstreicht die klinische Relevanz, protektive Mechanismen gegen den Ischämie-/Reperfusionsschaden zu entwickeln.

Nach einer erfolgreichen Lebertransplantation ist es für den Empfänger erforderlich, sich einer lebenslangen immunsuppressiven Therapie zu unterziehen, da es in dessen Körper sonst zu einer Abstoßungsreaktion kommen würde. Diese Therapie ist allerdings mit enormen Nebenwirkungen verbunden, welche nicht zuletzt in ihrer Ausprägung dosisabhängig sind. Die Schwere des Ischämie-/Reperfusionsschadens korreliert hier mit der Schwere einer chronischen Abstoßungsreaktion. Dies unterstreicht erneut dessen klinische Relevanz.

Ein viel versprechender Ansatz zur Minimierung des Ischämie-/Reperfusionsschadens ist die retrograde Reperfusion der Spenderleber über die infrahepatische *V. cava inferior*. Eine Tierexperimentelle Studie zu diesem Thema wurde jedoch bislang nicht durchgeführt.

Ziel der vorliegenden Studie war es also, 1. ein tierexperimentelles Modell mit einer retrograden Reperfusion bei der Lebertransplantation in der Ratte zu entwickeln, 2. zu evaluieren, ob laborchemisch ein geringerer Ischämie-/Reperfusionsschaden nach retrograder Reperfusion, verglichen mit der anterograden Reperfusion nachweisbar ist und 3., ob auch histomorphologische Unterschiede zwischen anterograder und retrograder Reperfusion nachgewiesen werden können.

Modell:

In der vorliegenden Arbeit wurden drei verschiedene Operationstechniken der Lebertransplantation anhand dreier verschiedener Versuchsgruppen miteinander im Rattenmodell verglichen. Die Gruppengröße betrug 7 Tiere. Als Versuchstiere wurden LEWIS-Ratten verwendet. Diese zeichnen sich dadurch aus, dass durch jahrelange Inzucht genetisch identische Tiere entstehen. Durch diese genetische Identität kann nach der Lebertransplantation eine Abstoßungsreaktion weitestgehend vermieden werden.

Für die Gruppe I, sowie die Gruppe II kamen etablierte Rattenlebertransplantationsmodelle zum Einsatz. Dabei unterschieden sich diese beiden Gruppen lediglich in dem Zeitpunkt der arteriellen Reperfusion. Während diese in der Gruppe I erst 6 Minuten nach der portalen Reperfusion stattfand, wurde in der Gruppe II eine synchrone Reperfusion durchgeführt, bei der Pfortader und *A. hepatica* gleichzeitig die Reperfusion ausmachten.

Für die Lebertransplantationen der Gruppe III (retrograde Reperfusion via *V. cava*) musste im Rahmen dieser Studie ein neues Lebertransplantationsmodell an der Ratte entwickelt werden. Dabei wurde nach der Fertigstellung der Anastomose der suprahepatischen *V. cava inferior* nicht wie in den bisherigen Rattenlebertransplantationsmodellen die Anastomose der Pfortader gefertigt, sondern vorerst die infrahepatische *V. cava inferior* anastomosiert. Nun konnte durch Freigabe des Blutstromes in der infrahepatischen *V. cava inferior* eine retrograde Reperfusion stattfinden.

Da der Zeitaufwand für die Anastomosierung der Pfortader oder der infrahepatischen *V. cava inferior* etwa derselbe ist, war die Zeitspanne zwischen Leberexplantation und Reperfusion in allen drei Gruppen nahezu identisch.

Nach 1, 24 und 48 Stunden post transplantationem wurden bei den Versuchstieren Blutentnahmen durchgeführt und die Serumwerte 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 Stunden nach der Lebertransplantation wurden die Versuchstiere sarkifiziert und die Transplantatlebern entnommen. Diese wurden im Institut für Pathologie und pathologische Anatomie des Klinikums rechts der Isar der TU-München aufgearbeitet und histologisch untersucht.

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 Stunden signifikant geringer als in der Gruppe II. Nach 48 Stunden war der Wert der Gruppe III signifikant geringer als in den beiden anderen Gruppen. Ähnlich verhielt sich die Aktivität der GPT. Diese war sowohl 24 als auch 48 Stunden nach der Lebertransplantation in der Gruppe der retrograden Reperfusion (Gruppe III) signifikant geringer als in den Gruppen mit anterograder Reperfusion. Auch die alkalische Phosphatase zeigte einen signifikanten Vorteil zugunsten der retrograden Reperfusion verglichen mit der simultanen Reperfusion, allerdings erst nach 48 Stunden. Die GLDH-Aktivität war in der Gruppe III sowohl nach 24, als auch nach 48 Stunden signifikant geringer als in der Gruppe II. Die Bilirubinwerte waren in den drei Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikant different.

Zwischen den Gruppen I und II zeichnete sich ein Vorteil für die Gruppe mit nicht simultaner Reperfusion ab. Signifikant niedriger war hier in der Gruppe I im Vergleich zur Gruppe II die Serumaktivität von GOT und GPT nach 24, sowie nach 48 Stunden und die Aktivität der GLDH nach 48 Stunden.

Die durchgeführte histologische Untersuchung der Transplantatlebern konnte das Ergebnis der laborchemischen Untersuchungen untermauern. Hierbei konnten in der Gruppe der retrograden Reperfusion signifikant weniger Nekroseherde gefunden werden, als in den Gruppen I und II. Auch die maximale Größe der gefundenen Nekrosen war in der Gruppe III signifikant geringer als in der Gruppe I. Die Nekrosenverteilung 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.

Schlussfolgerung:

Nach einer Lebertransplantation kommt es in der Transplantatleber zu einem Ischämie-/Reperfusionsschaden, welcher zu einer Mikrozirkulationsstörung und Zelluntergang führt. Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass der Ischämie-/Reperfusionsschaden, den eine Transplantatleber nach einer Lebertransplantation in der Ratte erfährt, deutlich geringer ausgeprägt ist, wenn die initiale Reperfusion nicht anterograd, also über die Pfortader und die Leberarterie geschieht, sondern retrograd, von der *V. cava inferior* aus stattfindet.

Gegenstand weiterer Forschungen sollte es nun sein, die Auswirkungen der retrograden Reperfusion auf die Transplantatfunktion in der klinischen Lebertransplantation weiter zu evaluieren und die Technik der retrograden Reperfusion im klinischen Alltag zu verbessern.

Die Technik der retrograden Reperfusion könnte so zu einer Minimierung von Komplikationen nach einer Lebertransplantation und zu einer Verbesserung des Überlebens von Patienten führen.

7 Literatur

1. Amersi F, Nelson SK, Shen XD, Kato H, Melinek J, Kupiec-Weglinski JW, Horwitz LD, Busuttill RW, Horwitz MA
Bucillamine, a thiol antioxidant, prevents transplantation-associated reperfusion injury
Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 8915-8920
2. Angelico M
Donor liver steatosis and graft selection for liver transplantation: a short review
Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2005; 9: 295-297
3. Arai M, Thurman RG, Lemasters JJ
Ischemic preconditioning of rat livers against cold storage-reperfusion injury: role of nonparenchymal cells and the phenomenon of heterologous preconditioning.
Liver Transpl 2001; 7: 292-299
4. Bajt ML, Farhood A, Jaeschke H
Effects of CXC chemokines on neutrophil activation and sequestration in hepatic vasculature
Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2001; 281: 1188-1195
5. Balabaud C, Cunha AS, Bioulac-Sage P
Microvascular graft dysfunction.
J Hepatol 2004; 41: 340-343
6. Bautista AP, Spitzer JJ
Platelet activating factor stimulates and primes the liver, Kupffer cells and neutrophils to release superoxide anion
Free Radic Res Commun 1992; 17: 195-209

7. Belghiti J, Noun R, Malafosse R, Jagot P, Sauvanet A, Pierangeli F, Marty J, Farges O
Continuous versus intermittent portal triad clamping for liver resection: a controlled study
Ann Surg 1999; 229: 369-375
8. Belzer FO, Southard JH
Principles of solid-organ preservation by cold storage
Transplantation 1988; 45: 673-676
9. Ben-Ari Z, Pappo O, Sulkes J, Cheporko Y, Vidne BA, Hochhauser E
Effect of adenosine A2A receptor agonist (CGS) on ischemia/reperfusion injury in isolated rat liver
Apoptosis 2005; 10: 955-962
10. Benckert C, Jonas S, Thelen A, Spinelli A, Schumacher G, Heise M, Langrehr J, Neuhaus P
Liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis: prognostic parameters.
Transplant Proc 2005; 37:1693-4
11. Bennett-Guerrero E, Feierman DE, Barclay GR, Parides MK, Sheiner PA, Mythen MG, Levine DM, Parker TS, Carroll SF, White ML, Winfree WJ
Preoperative and intraoperative predictors of postoperative morbidity, poor graft function, and early rejection in 190 patients undergoing liver transplantation
Arch Surg 2001; 136: 1177
12. Briceno J; Marchal T; Padillo J; Solorzano G; Pera C
Influence of marginal donors on liver preservation injury
Transplantation 2002; 74: 522-526
13. Brockmann JG, August C, Wolters HH, Homme R, Palmes D, Baba H, Spiegel HU, Dietl KH
Sequence of reperfusion influences ischemia/reperfusion injury and primary graft function following porcine liver transplantation
Liver Transpl 2005; 11: 1214-1222

14. Brölsch ChE, Neuhaus P, Pichlmayr R
Gegenwärtiger Stand der Lebertransplantation
Z Gastroenter 1982; 17: 117-122
15. Brölsch ChE, Neuhaus P, Wonigeit K, Pichlmayr R
Lebertransplantation. Wunschdenken oder Realität?
Therapiew 1984; 34: 4033-4037
16. Caldwell-Kenkel JC, Thurman RG, Lemasters JJ
Selective loss of nonparenchymal cell viability after cold ischemic storage of rat livers
Transplantation 1988; 45: 834-837
17. Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ
Reperfusion injury to endothelial cells following cold ischemic storage of rat livers
Hepatology 1989; 10: 292-299
18. Calne RY, Pentlow BD, White D, Evans DB, McMaster P, Rolles K, Dunn DC, Thiru S,
Craddock GN
Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors
The Lancet 1978; 2: 1323
19. Caraceni P; Domenicali M; Vendemiale G; Grattagliano I; Pertosa A; Nardo B;
Morselli-Labate AM; Trevisani F; Palasciano G; Altomare E; Bernardi M
The reduced tolerance of rat fatty liver to ischemia reperfusion is associated with
mitochondrial oxidative injury
J Surg Res 2005; 124: 160-168
20. Carini R, Albano E
Recent insights on the mechanisms of liver preconditioning
Gastroenterology 2003; 125: 1480-1491

21. Chiu KW, Chen YS, de Villa VH, Wang CC, Eng HL, Wang SH, Liu PP, Javan B, Huang TL, Cheng YF, Chen CL
Characterization of liver enzymes on living related liver transplantation patients with acute rejection
Hepatogastroenterology 2005; 52: 1825-7
22. Clavien PA, Morgan G, Sanabria JR, Harvey PRC, Strasberg SM
Effect of cold preservation on lymphocyte adherence in the perfused rat liver
Transplantation 1991; 52: 412-417
23. Clavien PA, Harvey PRC, Strasberg SM
Preservation and perfusion injury in liver allografts
Transplantation 1992; 53: 957-978
24. Clavien PA, Harvey PRC, Sanabria JR, Cywes R, Levy GA, Strasberg SM
Lymphocyte adherence in the reperfused rat liver: mechanisms and effects
Hepatology 1993; 17: 131-142
25. Coito AJ, Buelow R, Shen XD, Amersi F, Moore C, Volk HD, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW
Heme oxygenase-1 gene transfer inhibits inducible nitric oxide synthase expression and protects genetically fat Zucker rat livers from ischemia-reperfusion injury.
Transplantation 2002; 74: 96-102
26. Conde de la Rosa L, Schoemaker MH, Vrenken TE, Buist-Homan M, Havinga R, Jansen PL, Moshage H
Superoxide anions and hydrogen peroxide induce hepatocyte death by different mechanisms: involvement of JNK and ERK MAP kinases
Hepatology 2006; 44: 918-929
27. Connor HD, Gao W, Nukina S, Lemasters JJ, Mason RP, Thurman RG
Evidence that free radicals are involved in graft failure following orthotopic liver transplantation in the rat--an electron paramagnetic resonance spin trapping study
Transplantation 1992; 54: 199-204

28. Cray SH, Crawford MW, Khayyam N, Carmicheal FL
Effects of hypoxia and Isoflurane on liver blood flow: the role of adenosine
Br J Anaesth 2000; 86: 425-427

29. Daniela K, Michael Z, Florian I, Silvia S, Estrella J, Doris D, Karl-Heinz T
Influence of retrograde flushing via the caval vein on the post-reperfusion syndrome in
liver transplantation
Clin Transplant 2004; 18: 638-641

30. Decker K
Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells)
Eur J Biochem. 1990; 192: 245-61

31. Derin N; Izgut-Uysal VN; Agac A; Aliciguzel Y; Demir N
L-carnitine protects gastric mucosa by decreasing ischemia-reperfusion induced lipid
peroxidation
J Physiol Pharmacol 2004; 55: 595-606

32. Dörner K
Lehrbuch „Klinische Chemie und Hämatologie“
4. Auflage-Stuttgart: Thieme 2001; S. 256-257

33. Engemann R
Technique for orthotopic rat liver transplantation
In: Microsurgical models in rats for transplantation research
Thiede A et al.; Springer Verlag, Berlin 1985: 69-75

34. Engemann R, Ulrichs K, Thiede A, Müller-Ruchholtz W, Hamelmann H
Value of a physiological liver transplant model in rats. Introduction of specific graft
tolerance in a fully allogenic strain combination
Transplantation 1982; 33: 566-568

35. Eurotransplant
Number of transplants performed from post-mortem donors registered during 2005

36. Everhart JE, Lombardero M, Detre KM, Zetterman RK, Wiesner RH, Lake LR, Hoofnagle JH
Increased waiting time for liver transplantation results in higher mortality
Transplantation 1997; 64: 1300-1306
37. Fan YD, Praet M, Vanzieleghem B, Vanwynsbergh D, Stoop D, Leroux-Roels G, Delanghe J, 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 2000; 32: 1-10
38. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW
Hepatic ischemia/reperfusion injury—a fresh look
Exp Mol Pathol 2003; 74: 86–93
39. Friedl HP, Till GO, Ryan US, Ward PA
Mediator-induced activation of xanthine oxidase in endothelial cells
FASEB Journal 1989; 3: 2512-2518
40. Gao W, Lemasters JJ, Thurman RG
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 1993; 56: 19-24
41. Gassel HJ, Engemann R
Preservation of rat liver grafts
Transplantation 1987; 44: 726-727
42. George J
Artificial liver support systems.
J Assoc Physicians India 2004; 52: 719-722

43. Gondolesi GE, Lausada N, Schinella G, Semplici AM, Vidal MS, Luna GC, Toledo J, de Buschiazzo PM, Raimondi JC
Reduction of ischemia-reperfusion injury in parenchymal and nonparenchymal liver cells by donor treatment with DL-alpha-tocopherol prior to organ harvest
Transplant Proc 2002; 34: 1086-1091
44. Goto S, Kim YI, Kodama Y, Kai T, Kawano K, Delriviere L, Lynch SV, Kamada N, Kobayashi M
The effect of a prostaglandin I2 analogue (OP-41483) on energy metabolism in liver preservation and its relation to lipid peroxidative reperfusion injury in rats
Cryobiology 1993; 30: 459-465
45. Halon A; Patrzalek D; Rabczynski J
Hepatic steatosis in liver transplant donors: rare phenomenon or common feature of donor population?
Transplant Proc 2006; 38: 193-195
46. Hashimoto T; Sugawara Y, Kishi Y, Akamatsu N, Tamura S, Hasegawa K, Imamura H, Kokudo N, Makuuchi M
Long-term survival and causes of late graft loss after adult-to-adult living donor liver transplantation
Transplant Proc 2005; 37: 4383-5
47. Hasuike Y, Monden M, Valdivia LA, Kubota N, Gotoh M, Nakano Y, Okamura J, Mori T
A simple method for orthotopic liver transplantation with arterial reconstruction in rats
Transplantation 1988; 45: 830-832
48. Heidenhain C, Heise M, Jonas S, Ben-Asseur M, Puhl G, Mittler J, Thelen A, Schmidt S, Langrehr J, 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 2006; 19: 738-748

49. Hölscher M, Groenewoud AF
Current status of the HTK solution of Bretschneider in organ preservation
Transpl Proc 1991; 23: 2334-2337
50. Howden B, Jablonsti P, Grossman H, Marshall VC
The importance of the hepatic artery in rat liver transplantation
Transplantation 1989; 47: 428-431
51. Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ
Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia
Free Radic Res Commun 1991; 15: 277-284
52. Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z, Spitzer JJ
Superoxide generation by neutrophils and Kupffer cells during in vivo reperfusion after hepatic ischemia in rats
J Leukoc Biol 1992; 52: 377-382
53. Jaeschke H
Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver
Chem Biol Interact 1991; 79: 115-136
54. Jaeschke H
Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning
Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2003; 284: 15-26
55. Junquera LC, Carneiro J, Schiebler TH
In „Histologie“
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1996, 4. Auflage, 531-538
56. Kalayoglu M, Stratta RJ, Hoffmann RM, Sollinger HW, D'Alessandro AM, Pirsch JD, Belzer FO
Extended preservation of the liver for clinical transplantation
The Lancet 1988; 19: 617-619

57. Kamada N, Calne RY
Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage
Transplantation 1979; 28: 47-50
58. Kamada N, Calne R
A surgical experience with five hundred thirty liver transplantations in the rat
Surgery 1983; 93: 64-69
59. Kashfi A, Mehrabi A, Pahlavan PS, Schemmer P, Gutt CN, Friess H, Gebhard MM, Schmidt J, Buchler MW, Kraus TW
A review of various techniques of orthotopic liver transplantation in the rat.
Transplant Proc 2005; 37: 185-188
60. Kehl F, Ladisa JF Jr, Hettrick DA, Kersten JR, Warltier DC, Pagel PS
Influence of isoflurane on left atrial function in dogs with pacing-induced cardiomyopathy: evaluation with pressure-volume relationships
J Cardiothorac Vasc Anesth 2003; 17: 709-14
61. Kienle K, Rentsch M, Muller T, Engelhard N, Vogel M, Jauch KW, Beham A
Expression of BCL-2 in liver grafts after adenoviral transfer improves survival following prolonged ischemia and reperfusion in rat liver transplantation.
Transplant Proc 2005; 37: 439-441
62. Kitakado Y, Tanaka K, Asonuma K, Uemoto S, Matsuoka S, Utsunomiya H, Okamoto R, Katayama T, Inomata Y, Ozawa K
A new bioabsorbable material for rat orthotopic liver transplantation
Eur Surg Res 1991; 23: 366-70
63. Knecht KT, Adachi Y, Thurman RG
Role of Kupffer Cells, Endotoxin and Free Radicals in Hepatotoxicity Due to Prolonged Alcohol Consumption: Studies in Female and Male Rats
J Nutr 1997; 127: 903-906

64. Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Stadlbauer V, Tscheliessnigg KH
A single-center experience with retrograde reperfusion in liver transplantation.
Transpl Int 2003; 16: 730-735
65. Kneipeiss D, Iberer F, Schaffellner S, Jacoby E, Duller D, Tscheliessnigg KH
Feasibility of a new technique of reperfusion in liver transplantation
Transplantationsmedizin 2003; 15: 47-50
66. Kupiec-Weglinski JW, Busuttil RW
Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation
Transplant Proc 2005; 37: 1653-1656
67. Lee S, Charters AC, Chandler JG, Orloff MJ
A technique for orthotopic liver transplantation in the rat
Transplantation 1973; 16: 664-669
68. Lee S, Charters AC, Orloff MJ
Simplified technique for orthotopic liver transplantation in the rat
Am J Surg 1975; 130: 38-40
69. Lehmann TG, Wheeler MD, Froh M, Schwabe RF, Bunzendahl H, Samulski RJ,
Lemasters JJ, Brenner DA, Thurmann RG
Effects of three superoxide dismutase genes delivered with an adenovirus on graft
function after transplantation of fatty livers in the rat.
Transplantation 2003; 76: 28-37
70. Lemasters JJ
Necroptosis and the mitochondrial permeability transition: shared pathways to
necrosis and apoptosis
Am J Physiol 1999; 276: 1-6

71. Lin YH, Chiu JH, Tung HH, Tsou MT, Lui WY, Wu CW
Preconditioning somatothermal stimulation on right seventh intercostal nerve territory increases hepatic heat shock protein 70 and protects the liver from ischemia-reperfusion injury in rats.
J Surg Res 2001; 99: 328-334

72. Lutterova M, Kukan M, Vajdova K, Kuba D, Mislanova C, Kebis A, Danninger F, Mraz P
Protection of the rat liver against rewarming ischemic injury by University of Wisconsin solution
Langenbecks Arch Surg 2001; 386: 31-37

73. Man K, Lee TK, Liang TB, Lo TM, Fung PC, Tsui SH, Li XL, Ng KT, Fan ST
FK 409 ameliorates small-for-size liver graft injury by attenuation of portal hypertension and down-regulation of Egr-1 pathway.
Ann Surg 2004; 240: 159-168

74. Massarollo PC, Mies S, Raia S
Simultaneous arterial and portal revascularization in liver transplantation
Transplant Proc 1998; 30: 2883-2884

75. Matevossian M, Stangl M, Werner M, Heidecke CD, Siewert LR, Brücher B
Effekt der selektiven Inhibition der induzierbaren Nitritoxid-Synthase (iNOS) auf die mikrosomale Funktion (CYP) nach orthotoper Lebertransplantation im Rattenmodell
Posterbeitrag zur 83. Tagung der Vereinigung der Bayerischen Chirurgen e.V.
19.-21. Juni 2006

76. McKeown CMB, Edwards V, Phillips MJ, Harvey PRC, Petrunka CN, Strasberg SM
Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat
Transplantation 1998; 46: 178-191

77. Miyata M, Fischer JH, Fuhs M, Isselhard W, Kasai Y
A simple method for orthotopic liver transplantation in the rat. Cuff technique for three vascular anastomoses
Transplantation 1980; 30: 335-338
78. Mirza DF, Gunson BK, DaSilva RF, Mayer AD, Buckels AC, McMasters P
Policies in Europe on “marginal quality” donor livers
The Lancet 1994; 344: 1480-1483
79. Mokuno Y, Berthiaume F, Tompkins RG, Balis UL, Yarmush ML
Technique for expanding the donor liver pool: heat shock preconditioning in a rat fatty liver model.
Liver Transpl 2004; 10: 264-272
80. Moreno Sanz C, Jimenez Romero C, Moreno Gonzalez E, Garcia Garcia I, Seoane Gonzalez I, Loinaz Seguroola C, Garcia Urena MA, Gonzalez Chamorro A
Primary dysfunction after liver transplantation. Is it possible to predict this complication?
Rev Esp Enferm Dig. 1999; 91: 401-19
81. Morioka D, Kubota T, Sekido H, Matsuo K, Saito S, Ichikawa Y, Endo I, Togo S, Shimada H
Prostaglandin E1 improved the function of transplanted fatty liver in a rat reduced-size-liver transplantation model under conditions of permissible cold preservation
Liver Transpl. 2003; 9: 79-86
82. Nagendra AR, Mickelson JK, Smith CW
CD18 integrin and CD54-dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated human hepatocytes
Am J Physiol 1997; 272: 408-416

83. Ohkohchi N; Shibuya H; Tsukamoto S; Sakurada M; Oikawa K; Terashima T; Satomi S
Kupffer's cells modulate neutrophil activity by superoxide anion and tumor necrosis factor in reperfusion injury of liver transplantation-mechanisms of radical generation and reperfusion injury after cold ischemia
Transplant Proc 1999; 31: 1055-1058
84. Oshiro T, Shiraishi M, Muto Y
Adenovirus mediated gene transfer of antiapoptotic protein in hepatic ischemia-reperfusion injury: the paradoxical effect of Bcl-2 expression in the reperfused liver.
J Surg Res 2002; 103: 30-36
85. Park K, Chung KY, Sung SH, Kim BR, Kim YS
Protective effect of desferrioxamine during canine liver transplantation: significance of peritransplant liver biopsy
Transplant Proc 2003; 35: 117-119
86. Peng XX, Currin RT, Thurman RG, Lemasters JJ
Protection by pentoxifylline against normothermic liver ischemia/reperfusion in rats
Transplantation 1995; 59: 1537-1541
87. Peralta C, Hotter G, Closa D, Gelpi E, Bulbena O, Rosello-Catafau J
Protective effect of preconditioning on the injury associated to hepatic ischemia-reperfusion in the rat: role of nitric oxide and adenosine
Hepatology 1997; 25: 934-937
88. Perez-Daga JA, Santoyo J, Suarez MA, Fernandez-Aguilar JA, Ramirez C, Rodriguez-Canete A, Aranda JM, Sanchez-Perez B, Montiel C, Palomo D, Ruiz M, Mate A
Influence of degree of hepatic steatosis on graft function and postoperative complications of liver transplantation
Transplant Proc 2006; 38: 2468-2470
89. Pfitzmann R, Neuhaus P, Hetzer R
In: „Organtransplantation: Transplantation thorakaler und abdomineller Organe“
de Gruyter: Berlin: New York, 2001; S 152

90. Pichlmayr R, Brölsch Ch, Neuhaus P, Lauchart W, Grosse H, Creutzig H, Schnaidt U, Vonnahme F, Schmidt E, Burdelski M, Wonigeit K
Reports on 68 human orthotopic liver transplantations with special reference to rejection phenomena
Transplant Proc 1983, 15: 1279-1283
91. Pirenne J, Gunson B, Khaleef H, Hubscher S, Afford S, McMaster P, Adams D
Influence of Ischemia-Reperfusion Injury on Rejection After Liver Transplantation
Transplant Proc 1997; 29: 366-367
92. Pokorny H; Rasoul-Rockenschaub S; Langer F; Windhager T; Rosenstingl A; Lange R; Konigsrainer A; Ringe B; Muhlbacher F; Steininger R
Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution for organ preservation in human liver transplantation-a prospective multi-centre observation study
Transpl Int 2004, 17: 256-260
93. Polak WG, Miyamoto S, Nemes BA, Peeters PM, de Jong KP, Porte RJ, Slooff MJ
Sequential and simultaneous revascularization in adult orthotopic piggyback liver transplantation.
Liver Transpl 2005; 11: 934-940
94. Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, Stegall MD, Pirsch JD, Hoffmann RM, Sasaki T, Sollinger HW, Belzer FO, Kalayoglu M
Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation--a multivariate analysis
Transplantation 1993; 55: 807-13
95. Porte RJ, Ploeg RJ, Hansen B, van Bockel JH, Thorogood J, Persijn G, Hermans J, Terpstra OT
Long-term graft survival after liver transplantation in the UW era: late effects of cold ischemia and primary dysfunction. European Multicenter Study Group
Transpl Int 1998, 11(Suppl. 1):164

96. Post S, Menger MD, Rentsch M, Gonzalez AP, Herfarth C, Messmer K
The impact of arterialisation on hepatic microcirculation and leucocyte accumulation after liver transplantation in the rat
Transplantation 1992; 54: 789-794
97. Puhl G, Schaser KD, Pust D, Kohler K, Vollmar B, Menger MD, Neuhaus P, Settmacher U
The delay of rearterialization after initial portal reperfusion in living donor liver transplantation significantly determines the development of microvascular graft dysfunction.
J Hepatol 2004; 41: 299-306
98. Rentsch M, Post S, Palma P, Lang G, Menger MD, Messmer K
Anti-ICAM-1 blockade reduces postsinusoidal WBC adherence following cold ischemia and reperfusion, but does not improve early graft function in rat liver transplantation
J Hepatol 2000; 32: 821-828
99. Ringe B; Braun F; Moritz M; Zeldin G; Soriano H; Meyers W
Safety and efficacy of living donor liver preservation with HTK solution
Transplant Proc 2005, 37: 316-319
100. Rivenes SM, Lewin MB, Stayer SA, Bent ST, Schoenig HM, McKenzie ED, Fraser CD, Andropoulos DB
Cardiovascular effects of sevoflurane, isoflurane, halothane, and fentanyl-midazolam in children with congenital heart disease: an echocardiographic study of myocardial contractility and hemodynamics
Anesthesiology 2002; 96: 1273-1274
101. Rückert RI
Zur Geschichte der klinischen Lebertransplantation in Deutschland
Zentralblatt für Chirurgie 1992, 117: 299-306

102. Rusyn I; Kadiiska MB; Dikalova A; Kono H; Yin M; Tsuchiya K; Mason RP; Peters JM; Gonzalez FJ; Segal BH; Holland SM; Thurman RG
Phthalates rapidly increase production of reactive oxygen species in vivo: role of Kupffer cells
Mol Pharmacol 2001; 59: 744-750
103. Schauer RJ, Kalmuk S, Gerbes AL, Leiderer R, Meissner H, Schildberg FW, Messmer K, Bilzer M
Intravenous administration of glutathione protects parenchymal and non-parenchymal liver cells against reperfusion injury following rat liver transplantation
World J Gastroenterol 2004; 10: 864-870
104. Schemmer P, Schoonhoven R, Swenberg JA, Bunzendahl H, Thurman RG
Gentle in situ liver manipulation during organ harvest decreases survival after rat liver transplantation: role of Kupffer cells
Transplantation 1998; 65: 1015-1020
105. Schmidt R, Hoetzel A, Baechle T, Loop T, Humar M, Bauer M, Pahl HL, Geiger KK, Pannen BH
Isoflurane pretreatment lowers portal venous resistance by increasing hepatic heme oxygenase activity in the rat liver in vivo
J Hepatol 2004; 41: 706-713
106. Schutz E, Wieland E, Hensel A, Niedmann PD, Dreiss A, Armstrong VW, Schuff-Werner P, Oellerich M
Suppression of leukocyte-enhanced cold ischemia/reperfusion injury of liver endothelium with the benzoquinone antioxidant idebenone
Clin Biochem 1997; 30: 619-624
107. Selzner M, Clavien PA
Fatty liver in liver transplantation and surgery
Semin Liver Dis 2001; 21: 105-113

108. Selzner N, Rudiger H, Graf R, Clavien PA
Protective strategies against ischemic injury of the liver
Gastroenterology 2003; 125: 917-936
109. Serafin A, Fernandez-Zabalegui L, Prats N, Wu ZY, Rosello-Catafau J, Peralta C
Ischemic preconditioning: tolerance to hepatic ischemia-reperfusion injury.
Histol Histopathol 2004; 19: 281-289
110. Settaf A, Gugenheim J, Houssin D, Bismuth H
Cuff technique for orthotopic liver transplantation in the rat: a simplified method for the suprahepatic vena cava anastomosis
Transplantation 1986; 42: 330-331
111. Shappell SB, Toman C, Anderson DC, Taylor AA, Entman ML, Smith CW
Mac-1 (CD11b/CD18) mediates adherence-dependent hydrogen peroxide production by human and canine neutrophils
J Immunol 1990; 144: 2702-2711
112. Sindram D, Rudiger HA, Upadhyya AG, Strasberg SM, Clavien PA
Ischemic preconditioning protects against cold ischemic injury through an oxidative stress dependent mechanism
J Hepatol 2002; 36: 78-84
113. Soejima Y, Shimada M, Suehiro T, Kishikawa K, Yoshizumi T, Hashimoto K, Minagawa R, Hiroshige S, Terashi T, Ninomiya M, Shiotani S, Harada N, Sugimachi K
Use of steatotic graft in living-donor liver transplantation
Transplantation 2003; 76: 344-348
114. Starzl TE, Marchioro TL, von Kaulla KN, Hermann G, Brittain RS, Waddell WR
Homotransplantation of the Liver in humans
Surg Gynecol Obstet 1963; 117: 659-676

115. Starzl TE, Demetris AJ, van Thiel D
Liver transplantation (First of two parts)
N Engl J Med 1989; 321: 1014-1022
116. Starzl TE, Demetris AJ
Liver transplantation: a 31-year perspective. Part II
Curr Probl Surg 1990; 27: 117-178
117. Steffen R, Ferguson DM, Krom RA
A new method for orthotopic rat liver transplantation with arterial cuff anastomosis to the recipient common hepatic artery
Transplantation 1989; 48: 166-168
118. Steinhoff G, Behrend M, Schrader B, Pichlamyr R
Intercellular adhesion molecules in human liver transplants: overview and expression patterns of leukocyte receptor and ligand molecules
Hepatology 1993; 18: 440-453
119. Straatsburg IH, Boermeester MA, Wolbink GJ, van Gulik TM, Gouma DJ, Frederiks WM, Hack CE
Complement activation induced by ischemia-reperfusion in humans: a study in patients undergoing partial hepatectomy
J Hepatol 2000; 32: 783-791
120. Strieter RM, Remick DG, Ward PA, Spengler RN, Lynch JP 3rd, Larrick J, Kunkel SL
Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor-alpha production by pentoxifylline
Biochem Biophys Res Commun 1988; 155: 1230-1236
121. Sun CK, Zhang XY, Zimmermann A, Davis G, Wheatley AM
Effect of ischemia-reperfusion injury on the microcirculation of the steatotic liver of the Zucker rat
Transplantation 2001; 72: 1625-1631

122. Suzuki S, Toledo-Pereyra LH
Interleukin 1 and tumor necrosis factor production as the initial stimulants of liver ischemia and reperfusion injury
J Surg Res 1994; 57: 253-258
123. Takei Y, Marzi I, Gao W, Gores GJ, Lemasters JJ, Thurman RG
Leukocyte adhesion and cell death following orthotopic liver transplantation in the rat
Transplantation 1991; 51: 959-965
124. Testa G, Malago M, Nadalin S, Treptow B, Paul A, Frilling A, Broelsch CE
Histidine-tryptophan-ketoglutarate versus University of Wisconsin solution in living donor liver transplantation: results of a prospective study
Liver Transpl 2003; 9: 822-826
125. Tsuchimoto S, Kusumoto K, Nakajima Y, Kakita A, Uchino J, Natori T, Aizawa M
Orthotopic liver transplantation in the rat. A simplified technique using the cuff method for suprahepatic vena cava anastomosis
Transplantation 1988; 45: 1153-1155
126. Vollmar B, Glasz J, Menger MD, Messmer K
Leukocytes contribute to hepatic ischemia/reperfusion injury via intercellular adhesion molecule-1-mediated venular adherence
Surgery 1995; 117: 195-200
127. van As AB, Lotz Z, Tyler M, Kahn D
Impact of Celsior solution on hepatocellular, reperfusion and endothelial cell injury after liver transplantation
Dig Liver Dis 2001; 33: 181-186
128. van As AB, Lotz Z, Tyler M, Kahn D
Reperfusion injury associated with portal venous and hepatic arterial perfusion in liver transplantation
Transplantation. 2002; 74: 158-163

129. Verran D; Kusyk T; Painter D; Fisher J; Koorey D; Strasser S; Stewart G; McCaughan G
Clinical experience gained from the use of 120 steatotic donor livers for orthotopic liver transplantation
Liver Transpl 2003; 9: 500-505
130. Von Andrian UH, Hansell P, Chambers JD, Berger EM, Torres Filho I, Butcher EC, Arfors KE
L-selectin function is required for beta 2-integrin-mediated neutrophil adhesion at physiological shear rates in vivo
Am J Physiol 1992; 263: 1034-44
131. Waynforth HB
In: "Experimental and surgical technique in the rat"
Academic Press 1980, London, 240- 244
132. Watanabe J, Kushihata F, Matsumoto K, Honda K, Matsuda S, Kobayashi N
Downregulation of cytokine release by heat preconditioning of livers used for transplantation in rats.
Dig Dis Sci 2005; 50: 1823-1828
133. Weigand MA, Plachky J, Thies JC, Spies-Martin D, Otto G, Martin E, Bardenheuer HJ
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. 2001; 72: 694-698
134. Witthaut R, Farhood A, Smith CW, Jaeschke H
Complement and tumor necrosis factor-alpha contribute to Mac-1 (CD11b/CD18) up-regulation and systemic neutrophil activation during endotoxemia in vivo
J Leukoc Biol 1994; 55: 105-111

135. Yadav SS, Sindram D, Perry DK, Clavien PA
Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway
Hepatology 1999; 30: 1223-1231
136. Zhong Z, Connor HD, Froh M, Bunzendahl H, Lind H, Lehnert M, Mason RP, Thurman RG, Lemasters JJ
Free radical-dependent dysfunction of small-for-size rat liver grafts: prevention by plant polyphenols.
Gastroenterology 2005; 129: 652-664
137. Zhou T, Sun GZ, Zhang MJ, Chen JL, Zang DQ, Hu QS, Chen YY, Chen N
Role of adhesion molecules and dendritic cells in rat hepatic/renal ischemia-reperfusion injury and anti-adhesive intervention with anti-P-selectin lectin-EGF domain monoclonal antibody.
World J Gastroenterol 2005; 11: 1005-1010
138. Zimmermann FA, Butcher GW, Davies HS, Brons G, Kamada N, Turel O
Techniques for orthotopic liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic responses to fully allogeneic liver grafts
Transplant Proc 1979; 11: 571-577
139. Zwacka RM, Zhang Y, Halldorson J, Schlossberg H, Dudus L, Engelhardt JF CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver
J Clin Invest 1997; 100: 279-289

8 Abkürzungen

AMP	Adenosin 5` Monophosphat
AP	alkalische Phosphatase
ATP	Adenosin-Triphosphat
G-CSF	Granulozyten koloniestimulierender Faktor
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GOT	Glutamatoxalacetattransaminase
GPT	Glutamatpyruvattransaminase
γ -GT	Gamma-Glutamyltranspeptidase
HSP-32	Hitzeschock-Protein-32
HSP-72	Hitzeschock-Protein-72
ICAM-1	Intrazelluläres Adhäsionsmolekül-1
IFN- γ	Interferon- γ
IL-1	Interleukin-1
LFA-1	Leukozyten-Funktions-Antigen-1
LTx	Lebertransplantation
MHC	major histocompatibility complex
PAF	platelet activating factor
PNF	primäres Organversagen
SEC	Sinusendothelzellen
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1

9 Danksagung

Zunächst gilt mein Dank meinem Doktorvater Herrn PD Dr.med. M. Stangl für die Möglichkeit, dieses interessante Thema bearbeiten zu dürfen und für die großzügige Unterstützung während des Lernprozesses der für diese Arbeit notwendigen Methodik.

Außerdem möchte ich meinem Doktorbetreuer Dr.med.E. Matevossian für die ausgezeichnete wissenschaftliche Betreuung und für das Lehren der Methodik danken. Er lehrte mich das wissenschaftliche Arbeiten und hatte immer ein offenes Ohr bei auftretenden Problemen.

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

Für die laborchemischen Serumanalysen und insbesondere für die aufwendige Bestimmung der GLDH gilt mein Dank Fr. 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 Fr. 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 möchte ich an dieser Stelle für das angenehme Arbeitsklima und die freundliche Unterstützung danken.

Ein besonderer Dank gilt Herrn C. Bald, ohne dessen unermüdliche Hilfe bei den Versuchen und ohne die so oft wichtigen Aufmunterungen die Durchführung dieser Arbeit wesentlich erschwert gewesen wäre.

Frau A. Poczatek sei ganz herzlich für die optische Gestaltung der Arbeit gedankt.

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

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Hans Dietrich Kern
Geburtsdatum: 16.10.1977
Geburtsort: München

Schulbildung

1989-1991 Gymnasium Gilching
1991-1997 Internat Schule Schloss Salem
1996-1997 Kommandant der Werksfeuerwehr Schloss Salem/Spetzgart
1996-1998 Erhalt der allgemeinen Hochschulreife an der Schule Schloss Salem

Arbeitserfahrung

1997-1998 Zivildienstleistender als Rettungssanitäter beim BRK Kreisverband München
1998-1999 Hauptamtliche Tätigkeit als Rettungssanitäter an der Rettungswache München-Ismaning
2000-2001 Tätigkeit als Präparationsassistent für die deutschen Medizinstudenten an der Universität Szeged ; Albert Szent-Györgyi Medizinisches und Pharmazeutisches Zentrum , Ungarn
März 2002 Famulatur am Klinikum rechts der Isar in der II. Med. Abteilung
März 2003 Famulatur an der Klinik Dr. Michael Schreiber, München, im Bereich Unfall- und Viszeralchirurgie
Okt.2003 Teilnahme am Operationskurs experimentelle Nieren- und Lebertransplantation Universitätsklinikum Münster
Sept.2004 Famulatur im Institut für exp. Onkologie und Therapieforschung der TU-München
2005-2006 Praktisches Jahr am Klinikum rechts der Isar in München
Wahlfach: Orthopädie

Juli 2006-April 2007	Tätigkeit als Arzt auf der Station 1/2 des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München. Hierbei Betreuung von Studienpatienten (z.B. MUNICON II).
April 2007-Januar 2008	Tätigkeit als Arzt im chirurgischen Notfallzentrum des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München.
Seit Januar 2008	Tätigkeit als Prüfarzt im Münchner Studienzentrum im Bereich klinische Studien der Chirurgie

Hochschulausbildung

1999	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität Szeged, Albert Szent-Györgyi Medizinisches und Pharmazeutisches Zentrum, Ungarn
2001	Ärztliche Vorprüfung Wechsel an die TU München
2002	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
2005	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
2006	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung mit Erhalt der Approbation

Sprachkenntnisse

Deutsch	Muttersprache
Englisch	fließend in Wort und Schrift
Latein	großes Latinum
Ungarisch	gute Kenntnisse