

Aus der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss der aeroben Maschinenperfusion an marginalen
Spenderorganen nach orthotroper Lebertransplantation am
Rattenmodell

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Paul Gaß
aus Berlin

Datum der Promotion: 14.02.2014

Inhaltsverzeichnis

I. ZUSAMMENFASSUNG	4
II. SUMMARY.....	5
1. EINLEITUNG	6
1.1. LEBERTRANSPLANTATION (LTX)	6
1.1.1. Indikationen und Kontraindikationen	6
1.1.2. Auswahl des richtigen Spenders.....	7
1.1.3. Auswahl des richtigen Empfängers.....	7
1.1.4. Anatomie und Aufgaben der Leber	11
1.2. AKTUELLE SITUATION DER ORGANSPENDEN.....	12
1.2.1. Deutschland.....	12
1.2.2. Europa	13
1.3. REGELUNG ZUR POSTMORTALEN ORGANSPENDE.....	13
1.3.1. Zustimmungslösung.....	13
1.3.2. Widerspruchslösung	14
1.3.3. Entscheidungslösung.....	14
1.4. MÖGLICHKEITEN ZUR ERWEITERUNG DES SPENDERPOOLS	15
1.4.1. Koordination der Organspende	15
1.4.2. Lebendspende (LDLT)	15
1.4.3. Heartbeating donors (HBD).....	16
1.4.4. Non-Heartbeating donors (NHBD)	17
1.5. VERGRÖßERUNG DES ISCHÄMISCHEN ZEITFENSTERS	20
1.5.1. Grundlagen des Zellschadens	20
1.5.2. Konservierungs-/Perfusionslösungen	21
1.5.3. Maschinenperfusion (MP)	24
1.6. FRAGESTELLUNG	26
2. METHODEN	27
2.1. WAHL DES TIERMODELLS.....	27
2.2. VERSUCHSTIERE UND VERSUCHSGRUPPEN	27
2.3. STUDIENDESIGN.....	28
2.4. DETAILLIERTER VERSUCHSAUFBAU	30
2.4.1. Narkose/Operationsmanagement	30
2.4.2. Aufbau und Durchführung der MP	31
2.4.3. Explantation der Spenderleber.....	32
2.4.4. Statische Kaltkonservierung (SCS) und Transplantationsvorbereitung der Spenderleber	39
2.4.5. Transplantation der Spenderleber.....	41
2.4.6. Postoperative Schritte.....	43
2.5. GERÄTE UND HILFSMITTEL.....	44
2.6. DATENSUCHE, DATENERFASSUNG UND STATISTISCHE AUSWERTUNG	45

3. ERGEBNISSE	47
3.1. SEKUNDÄRE ENDPUNKTE	47
3.1.1. Leberwerte und Zellschaden während der MP	47
3.1.2. Sauerstoffversorgung während der MP	52
3.1.3. Ischämie- und Reperfusionsschaden (IRI)	55
3.1.4. Präfinale Verlaufswerte nach sechzig Tagen Follow-Up	57
3.2. PRIMÄRER ENDPUNKT	58
4. DISKUSSION	60
4.1. TESTGÜTE DER ERGEBNISSE	60
4.1.1. Darstellung zur Maschinenperfusion	60
4.1.2. Darstellung zur Operation	61
4.2. WIE SIND DIE ERGEBNISSE ZU WERTEN?	65
4.3. RECHTLICHE LAGE DER NHBD IN DEUTSCHLAND	75
III. LITERATURVERZEICHNIS	78
IV. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	94
V. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	95
VI. LEBENSLAUF	97
VII. PUBLIKATIONEN	98
VIII. DANKSAGUNG	99

I. Zusammenfassung

Die Lebertransplantation gehört von den 12.000 benötigten Spenderorganen nach der Nierentransplantation zu dem zweit häufigsten Eingriff in der Transplantationsmedizin. In Europa wird die Verteilung der Organe über nationale oder internationale Vereinigungen organisiert. So haben sich Länder wie Deutschland mit ihrer nationalen Vergabestelle der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) mit Österreich, den Benelux-Ländern, Slowenien und Kroatien zu Eurotransplant (ET) schon 1967 zusammengeschlossen. Derzeit wird die Zustimmungslösung von der Entscheidungslösung zur Vergabe der postmortalen Organe nach Hirntod des Spenders abgelöst. Die Vergabe der Spenderleber an einem Empfänger wird nach dem MELD-Score geregelt.

Die etablierteste und häufigste Art der Leberspende ist jene nach dem Hirntod (DBD). Deutlich seltener wird die Lebendspende hierzulande durchgeführt. Nicht vereinbar mit dem deutschen Transplantationsgesetz, aber durchaus zur Erweiterung des Spenderpool beitragend, ist die Spende nach dem Herztod (NHBD/DCD). Dieses Verfahren wird in ausgewählten Zentren auf der Welt auf Basis der statischen kalten Organkonservierung (SCS) durchgeführt. Eine Alternative zur SCS ist die aufwendige experimentelle Maschinenperfusion (MP) in Hypothermie (HMP), Subnormothermie (sNMP) oder in Normothermie (NMP).

Das Ziel dieser Arbeit war der Vergleich unterschiedlicher Perfusionslösungen zur MP am NHBD am Ratenmodell. Es gab drei Gruppen, die nach 1h Warmischämie gefolgt von 5h-SCS + 1h-MP zugeführt wurden. Die benutzten Lösungen waren die HTK (1. H-MPS), UW-MP (2. B-MPS) und eine Basis-Lösung mit einem auf Hämoglobin basierten Sauerstoffträger (3. O-MPS), dem Oxyglobin®. Die Kontrollgruppe (4.) wurde nach 1h Warmischämie einer 6h-SCS zugeführt. Abschließend erfolgte in allen vier Gruppen die Lebertransplantation. Das Follow-up betrug 60 Tage.

Keiner der Tiere aus zwei von drei MP-Gruppen überlebten den ersten postoperativen Tag. Nur die B-MPS mit der modifizierten UW-Lösung konnte mit 4/5 überlebten Tieren gegenüber der Kontrollgruppe mit 6/6 überlebten Tieren mit nicht signifikanten Überlebensdaten überzeugen. Es gab in den Surrogatmarkern (ALT, AST, GLDH, LDH) während der MP und postoperativ zwischen der H-MPS/O-MPS und der B-MPS/Kontrolle keine eindeutigen signifikanten Unterschiede.

II. Summary

Liver transplantation is one of the 12,000 needed donor organs right after the kidney transplantation on the second place of the most common interference in transplantation medicine. In Europe, the distribution of the organs is being organized by national or international associations. Thus, countries such as Germany with its national procurement office of the German Foundation for Organ Transplantation (DSO) have joined forces to Eurotransplant (ET) with Austria, the Benelux countries, Slovenia and Croatia in 1967. Currently, for the award of post-mortem organs after brain death of the donor, the consent solution is removed by decision solution. The allocation of donor liver at a receiver is governed by the MELD score.

The most established and most common type of liver donation is that after brain death (DBD). Significantly less frequent living donation liver transplant (LDLT) is carried out in this country. Incompatible with the German Transplantation Act, but certainly contributing to expand the donor pool is the donation after cardiac death (NHBD/DCD). This process is carried out at selected centers of the world on the basis of the simple static cold storage (SCS). An alternative to SCS is the complicated experimental machine perfusion (MP) in hypothermia (HMP), subnormothermia (sNMP) or normothermia (NMP). The aim of this study was to compare different perfusion solutions for the MP on NHBD in rats. There were three groups that underwent after 1h of warm ischemia 5h-SCS + 1h-MP. The used solutions were the HTK (1. H-MPS), UW-MP (2. B-MPS) and a basic solution with a hemoglobin-based oxygen carrier (3. O-MPS), the Oxyglobin®. The control group underwent after 1h warm ischemia 6h-SCS. Finally the liver transplantation took place in all four groups. The follow-up was 60 days.

None of the animals from two of three MP-groups survived the first postoperative day. Only the B-MPS with the modified UW-solution could convince with not significant survival data with 4/5 animals survived compared with the control group with 6/6 animals survived. There were no clear significant differences in the surrogate markers (ALT, AST, GLDH, LDH) during the MP and postoperatively between the H-MPS/O-MPS and B-MPS/controls.

1. Einleitung

1.1. Lebertransplantation (LTx)

Für das Endstadium fortgeschrittener chronischer Lebererkrankungen (CLV) und dem akuten Leberversagen (ALV) stellt die orthotrope LTx das einzig kurative Behandlungskonzept dar.

1.1.1. Indikationen und Kontraindikationen

Etwa 8% der lebertransplantierten Patienten in Europa hatten zur Indikationsstellung ein ALV [Abb. 1]. Dieses kann durch eine fulminante Hepatitis-B-Virus-Infektion oder beispielsweise in Großbritannien oder den USA in mehr als der Hälfte durch eine medikamentöse Intoxikation mit Paracetamol verursacht sein [1,2].

Das CLV wird durch eine Vielzahl anderer Erkrankungen ausgelöst [Abb. 1]. Ein Großteil geht oft eine Leberzirrhose zurück. Die Leberzirrhose ist ein chronischer bindegeweblicher Umbauprozess des Leberparenchyms, welches mehr als 50% aller Patienten vor einer LTx besaßen. Verursacher sind langjährige virale Expositionen (Cytomegalie-Virus, Ebstein-Barr-Virus, Hepatitis-B-Virus, Hepatitis-C-Virus) oder ethyltoxischer Abusus. Zu den malignen Gründen, die zur LTx führen, sind am ehesten hepatozelluläre Karzinome (HCC) und in seltenen Fällen hiläre cholangiozelluläre Karzinome (CCC) oder Hämangiomasen zu nennen. Es ist drauf hinzuweisen, dass ein CCC nur mit einem neoadjuvanten Protokoll [3] oder ein HCC nur innerhalb der Milan-Kriterien [4] bzw. der University of California at San Francisco-Kriterien (UCSF) [5] eine Indikation zur LTx ist.

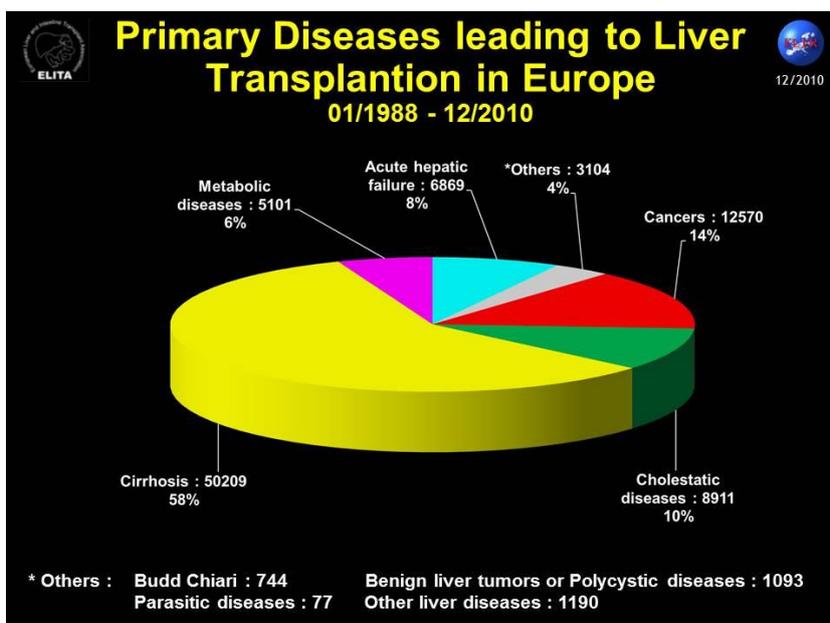


Abb. 1
Erkrankungen, die in Europa zwischen 1988-2010, die zur LTx geführt hat [6]

Absolute Kontraindikationen bestehen bei kardiopulmonalen Insuffizienzen, extrahepatische Malignomen oder aktivem Alkoholkonsum. Patienten mit infizierten Human Immunodeficiency Virus (HIV) oder einem Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) haben seit Beginn der Highly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART) ebenfalls die Chance von einer LTx zu profitieren. Relative Kontraindikationen sind in typischer Weise eine Reduktion des Allgemein- oder Ernährungszustandes durch lange Wartezeiten auf eine Spenderleber.

1.1.2. Auswahl des richtigen Spenders

Die Wahl des passenden Spenders unterliegt den bindenden Richtlinien der Bundesärztekammer (BÄK) für die involvierten Personen (Ärzte, Transplantationsbeauftragte, Mitarbeiter von Transplantationsbüros u.a.). Sie setzt den unumkehrbaren Sterben des Menschen voraus. Dieser ist im rechtmedizinischen Sinne eindeutig, wenn sichere Todeszeichen (Totenflecken, Totenstarre oder Fäulnis) zu erkennen sind. Dieser Zustand ist mit einer Transplantation im engeren Sinne nicht vereinbar und ist nicht dem Hirntod gleichgesetzt. Der Hirntod – erstmals 1968 von der Harvard Medical School nach Kriterien publiziert [7] – bezeichnet in Deutschland den irreversiblen Ausfall des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstammes. Die Hirntoddiagnostik muss von zwei unabhängigen, erfahrenden approbierten Ärzten - meistens konsiliarisch dazu gerufene Neurologen - diagnostiziert werden. Dieser nutzt zur Diagnosestellung klinische und apparative Untersuchungsmethoden. Der Hirntod ist bei primärer Hirnschädigung nach mindestens 12h und bei sekundärer Hirnschädigung nach 72h durch einen Arzt erneut festzustellen. Die Dokumentation ist im „Protokoll zur Festlegung des Hirntodes“ niederzuschreiben und mit dem Leichenschein/Totenschein aufzubewahren. Der Hirntod dient als Voraussetzung für eine Transplantation allgemein. Während dieser Zeit muss die Herz-Kreislauf-Funktion, sowie die Atemfunktion des toten Spenders aufrechterhalten werden [8].

1.1.3. Auswahl des richtigen Empfängers

Die Wahl des passenden Empfängers unterliegt ebenfalls den bindenden Richtlinien der BÄK für die involvierten Personen (Ärzte, Transplantationsbeauftragte, Mitarbeiter von Transplantationsbüros u.a.).

Medizinisch und ethisch muss die Frage des ausgewählten Empfängers eindeutig geklärt, dokumentiert und regelmäßig evaluiert werden. Nach der ersten – nicht erfolgreichen – humanen Lebertransplantation 1963 durch Thomas Earl Starzl [9] in Denver, Colorado (USA) wurden verschiedene Kriterien und Scores entwickelt.

Zur Stadieneinteilung und damit zur Prognose eines Patienten mit Leberzirrhose wurde 1964/1973 durch Child und Turcotte et al., modifiziert durch Pugh et al. der früher weltweit verwendete Child-Turcotte-Pugh (CTP)-Score eingeführt. Errechnet wird er durch folgende Angaben des Empfängers [Tab. 1].

	1	2	3
INR	> 1,7	1,7-2,3	< 2,3
Albumin (g/l)	35	28-35	< 28
Bilirubin (mg/dl)	< 2	2-2,9	≥ 3,0
Aszites	Kein/wenig	Mäßig/Therapierbar	Ausgeprägt/Refraktär
Enzephalopathie (Grad)	0 (Keine)	I-II	III-IV

Tab. 1 Child-Turcotte-Pugh (CTP)-Score.

Die 1-Jahresüberlebensrate vermindert sich von nahezu 100% im Stadium A (5-6 Punkte) über das Stadium B (7-9 Punkte) auf weniger als 40% im Stadium C (10-15 Punkte). Somit ist eine Indikation zur LTx im Stadium B und C zustellen [10,11].

Zur weiteren Verbesserung der Allokation der Spenderlebern wurde der Wartezeit-basierten CTP durch den laborchemisch basierten Model of End-Stage Liver Diseases (labMELD)-Score für Empfänger über 12 Jahren ersetzt. Errechnet wird er durch eine mathematische Formel, die von der Mayo-Klinik ursprünglich entwickelt [12], von dem United Network for Organ Sharing (UNOS) aus den USA modifiziert und Anfang 2002 mit Hilfe des Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN) eingeführt wurde [13]. In die Berechnung fließt das Gesamt-Bilirubin (mg/dl), die INR, das Serum-Kreatinin (mg/dl) und die Dialysepflicht des Empfängers ein. Die Formel lautet:

$$\text{LabMELD-Score} = 10 \{0,957 \ln(\text{Kreatinin}) + 0,378 \ln(\text{Bilirubin}) + 1,120 \ln(\text{INR}) + 0,643$$

In der Summe ergibt sich ein minimaler Wert von 6 Punkten und maximal begrenzter Wert von 40 Punkten. Bei der Berechnung sind die Hinweise insbesondere des Kreatinin-Wertes zu beachten. Der MELD-Score gibt nicht die 1-Jahresüberlebensrate wie der CTP-Score, sondern die präoperative 3-Monatssterblichkeit wieder. Diese reicht von einer leichten Leberfunktionsstörung (6 Punkte) mit 3-Monatssterblichkeit von 1,9% in älteren Daten aus dem Jahr 2002 bzw. in neueren Daten von 1% bis zu einer schweren Leberfunktionsstörung (40 Punkte) von 71,3% bzw. 98% [14,15]. Später gab es eine weitere, bisher noch unberücksichtigte Modifikation des MELD-Scores (MELDNa-Score) der Mayo-Klinik, bei welcher der prognostische Natriumwert im Serum in die Berechnung mit einging [16,17]. Für Kinder unter 12 Jahren wurde die Modifikation des MELD-Scores namens Pediatric End-Stage Liver Diseases (PELD)-Score 2002 entwickelt [18]. Allerdings wurde diese nach einer Konsensus-Konferenz 2005 der ET-Ländern nicht zusammen mit dem MELD-Score eingeführt. Es wurde entschieden, eine Variante des PELD einzuführen, nachdem Kinder zwischen 12-16 Jahren ähnlich behandelt werden wie Erwachsene nach dem labMELD-Score und Kinder unter 12 Jahren nach einem pediatricMELD-Score [19]. Letzteres bezeichnet eine Bonusregelung ähnlich den „standard exceptions“ bei Erwachsenen [siehe unten]. Durch die verbesserten Mortalitätsraten der Patienten auf den Wartelisten [20] übernahm ET den labMELD-Score Ende 2006 zur bindenden Evaluation einer möglichen Lebertransplantation und ersetzte das Mitte 2000 eingeführte ET Liver Allocation System (ELAS) auf Basis der CTP-Scores [21].

Der labMELD-Score wurde allerdings nicht vollständig aus den USA übernommen, sondern innerhalb der genannten ET-Länder und deren nationale Richtlinien angepasst: Die Priorisierung- oder Dringlichkeitsstufen für die Allokation gliedern sich in

- 1) „Sickest first“ (Kränkste Patienten zuerst)
- 2) Kombinierte Organtransplantation
- 3) „Standard exceptions“ (Ausnahmeregel) oder „Non-standard exceptions“ (Nicht in Ausnahmeregel berücksichtigt)
- 4) Patienten, die nicht unter Priorität 1, 2 oder 3 fallen

Prioritätsstufe 1 bildet sich aus Patienten, die ein ALV aufgrund keiner chronischen Erkrankung bekamen. Diese lebensbedrohliche Situation („high urgency“) hat unterschiedliche Ursachen (Transplantatversagen, Lebertrauma, akute Paracetamol-Intoxikation, akute virale Genese). Um dieses Kollektiv entsprechend adäquater bewerten zu können, führte das Kings-College neue Kriterien ein, die ein Paracetamol

und Nicht-Paracetamol induziertes ALV objektivieren [22,23]. Bei einer viralen Ursache werden die Clichy-Kriterien zur Einordnung des ALV herangezogen [24]. Bei Patienten dieser Dringlichkeitsstufe I wird kein MELD berechnet und benötigt.

Prioritätsstufe 2 bildet sich aus Patienten, die für eine kombinierte Organtransplantation gelistet sind. Eine sogenannte Auditgruppe der jeweiligen Vermittlungsstelle kommuniziert mit dem Transplantationszentrum, ob eine kombinierte Organtransplantation von operativen Erfolg und patientenrelevanter guter Prognose gekrönt wäre. Beispiele sind eine Leber-Dünndarmtransplantation bei einem Kurzdarm-Syndrom, Leber-Lungen-Transplantation bei einer Hämochromatose oder eine Leber-Niere-Transplantation bei einem hepatorenenalen Syndrom. Letzteres wird allerdings separat über die Warteliste zur Nierentransplantation entschieden.

Prioritätsstufe 3 vereinigt alle Patienten mit einer schweren chronischen Lebererkrankung, die der labMELD-Score nicht adäquat abbildet. Innerhalb dieser Gruppe führen die einzelnen Erkrankungen durch eine Erhöhung der Punkte innerhalb der Warteliste zu einer früheren Lebertransplantation („Standard exceptions“). Dieser zugewiesener Punktwert nennt sich Match-MELD-Score und wird seit Einführung 2008 [25] beispielhaft für folgende Erkrankung eingesetzt: Zystische Fibrose (CF), HCC, CCC, nicht-metastasierendes Hepatoblastom oder primär sklerosierende Cholangitis (PSC). Die vollständige Liste wurde von der BÄK veröffentlicht und Anfang 2011 aktualisiert [15]. Wenn Patienten nicht in die Prioritätsstufe 3 fallen, das Transplantationszentrum aber die Meinung vertritt, dass der labMELD-Score die Dringlichkeit der LTx nicht abbildet, dann kann ein Audit-Verfahren diese Fragestellung klären („Non-Standard exceptions“). Ein Beispiel für solche Fälle sind LTx bei schwer erkrankten Kindern mit schlechter Prognose ohne eine dringliche LTx. Diese Regelung wurde zum bestehenden System zusätzlich von der BÄK 2007 eingeführt. Es zählt für die Prioritätsstufe 3 der jeweils höhere Punktwert des labMELD-Scores oder des beantragten Match-MELD-Scores für die Indikationsstellung [26]. Die erneute Zertifizierung des Punktwertes muss ab einem MELD-Score von 25 Punkten alle sieben Tage erfolgen, sonst verfällt der Punktwert. Bei einem Punktwert von 0 bis 10 genügt die jährliche Re-Zertifizierung [15]. Die Wartezeit auf eine Spenderleber im Unterschied zum früheren System spielt – außer in seltenen Konstellationen - keine Rolle mehr.

Es fallen Ende 2010 60% der Patienten auf der Warteliste in Prioritätsstufe 4 (labMELD-Score) und etwa 36% in Prioritätsstufe 3 („Standard exceptions“ und „Non-standard

exceptions“). Mit Einführung des MELD-Scores ist das postoperative 1-Jahresüberleben der Empfänger nach einer monozentrische Analyse um 9% gesunken (88,6% vs. 79,6%; $p = 0,03\%$) [27]. Gleichzeitig ergab sich ein deutlich positiver Trend zu einer Mortalitätsenkung auf der Warteliste von 20% (2002-2005) auf 10% (2007) [28]. Der MELD-Score scheint in all seinen Varianten und zahlreichen Ausnahmenreglungen derzeit das einzige Mittel zur Allokation zu sein, ob es das Beste ist, wird seit der Einführung diskutiert.

1.1.4. Anatomie und Aufgaben der Leber

Die Leber ist ein parenchymatöses Organ im rechten und mittleren Oberbauch des Menschen. Sie wiegt etwa 1,4 bis 1,8kg, makroskopisch in Leberlappen und Lebersegmente (nach Claude Couinaud) und mikroskopisch in Leberläppchen eingeteilt. Die portale Trias besteht aus Arterie, Vene und Gallengangsystem. Die Blutversorgung wird zu 30% aus der Arteria hepaticae communis und zu 70% aus der Vena portae hepatis (Pfortader, PV) gewährleistet. Der größte Teil der Sauerstoffzufuhr gelangt allerdings durch die A. hepaticae communis aus dem Truncus coeliacus (aortaler abdominaler Abgang) in die Leber. Die Pfortader entsteht durch den vereinigten venösen Zufluss der Vena lienalis (Milzvene) und den Venen des Gaster, Duodenum, Ileum, Jejunum, Kolon, oberes Rektum und Pankreas. Der venöse Blutabfluss erfolgt durch die Vv. hepaticae in die V. cava inferior (IVC) zum rechten Herzen. Das Gallengangsystem entsteht im Leberparenchym. Alle intrahepatischen Gallengänge vereinigen sich zum extrahepatischen Ductus hepatis communis (DHC). Die Gallenblase steht über Ductus cysticus mit dem Ductus hepatis communis in Kontakt. Nach dieser Vereinigung genannte Ductus hepaticus (Ductus choledochus) mündet dieser mit dem aus dem Pankreas kommenden Ductus pankreaticus major (Wirsungianus) im Pankreaskopf über eine Ampulle in das Duodenum (Papilla duodeni major Vateri). Die sympathische und parasympathische nervale Innervation begleitet den Verlauf der Arterien. Ihre Aufgaben bestehen im Bereich des Kohlenhydrat-, Protein- und Fettstoffwechsels, der Speicherung (Fette, Glykogen, Vitamine und Spurenelemente), der endogenen/exogenen Entgiftung (Bilirubin, Harnstoff und Medikamente) und der endokrinen (Serumproteine, Gerinnungsfaktoren und Wachstumsfaktoren) und exokrinen Sekretion (Gallenflüssigkeit).

1.2. Aktuelle Situation der Organspenden

1.2.1. Deutschland

In Deutschland wurden im Jahr 2010 5.083 Organe transplantiert. Aus den gelisteten Patienten ergibt sich ein Bedarf von 12.000 Organen pro Jahr, welche in absteigender Reihenfolge nach Anzahl ihrer Transplantationen folgende sind: Niere, Leber, Herz, Lunge, Pankreas und Dünndarm. Die Zahl der Organspender ist im Jahr 2010 von 1296 auf 1200 im Jahr 2011 um 7,4% gesunken. 2012 kam es erneut zu einer drastischen Senkung von 12,8% mit dem niedrigsten Stand seit 2002.

Die Lebertransplantation (einschließlich Teilorgane) wurde in 23 deutschen Transplantationszentren 1.192-mal durchgeführt. Die hiesige Charité Universitätsmedizin zu Berlin (Campus Virchow-Klinikum) ist damit das zweitgrößte Lebertransplantationszentrum bundesweit.

Die Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO) ist seit Oktober 1984 eine Einrichtung zur Koordination der Organspende bis zur Verteilung der genannten Spenderorgane in das geeignete Transplantationszentrum. Bundesweit arbeiten die Mitarbeiter der DSO mit etwa 1.350 Krankenhäusern zur postmortalen Organspende und 50 zertifizierte Transplantationszentren zusammen. Die Aufgaben innerhalb des Prozesses werden vom Spitzenbund der gesetzlichen Krankenversicherungen (GKV-S), der BÄK und der Deutschen Krankenhausgesellschaft (DKG) vorgeschrieben. Die Anzahl an gespendeten Organe pro Million Einwohner (pmp) lag in Deutschland im Jahr 2010 bei 15,9. Über den Rückgang auf 14,7 im Jahr 2011 haben sich die deutschen Experten schon zu einige Diskussionen geführt [29]. Man geht davon aus, dass es sich um eine nicht trend-bezogene Schwankung handelt. Diese kam öfters vor und wird verstärkt durch die zähe Einigung in der deutschen Gesetzesänderung [siehe 4.3.] und/oder eine Häufung der Patientenverfügungen mit frühzeitigem Therapieabbruch [30]. Der negative Trend vom Jahr 2012 zum Vorjahr auf nur noch 13,8 ist bekanntlich durch die Transplantationsskandale und ihren großen Vertrauensverlust in der Bevölkerung entstanden [29].

Die DSO unterliegt dem Transplantationsgesetz (TPG) vom Ausfertigungsstand November 1997 mit letzten rechtlich gültigen Änderungen im November 2012 (Stand: 5/2013) [31].

1.2.2. Europa

Die europäischen Länder müssen innerhalb und außerhalb dem Einzugsgebiet der Stiftung Eurotransplant (ET) unterschieden werden. ET koordiniert seit 1967 aus dem niederländischen Leiden die Verteilung der Spenderorgane zwischen Deutschland, den Benelux-Ländern (Luxemburg, Belgien, Niederlande), Österreich, seit 2000 Slowenien und seit 2007 Kroatien. Dort werden 72 Transplantationszentren und tausende Krankenhäusern in den genannten Ländern vernetzt. ET vereinigt damit 125 Millionen Europäer [32].

Spanien, als exemplarisches Beispiel mit Widerspruchsregelung und Vorreiter mit der höchsten Spenderbereitschaft weltweit. Diese betrug 34,4pmp im Jahr 2009. Diese herausragende Zahl ist seit Gründung im Jahr 1989 der spanischen National Transplant Organization (Organización Nacional de Transplantes, NTO) zu verdanken und seitdem stetig gestiegen. Zur weiteren Unterstützung der dortigen Ärzte kommen in jedem Krankenhaus Transplantationskoordinatoren zum Einsatz. Dadurch sind insbesondere die relativen und absoluten Zahlen der Nieren- und Lebertransplantationen deutlich angewachsen [33]. Zum Vergleich: In Großbritannien liegen die gespendeten Organen mit Zustimmungslösung bei 16,3 im Jahr 2010 ähnlich niedrig wie in Deutschland [34]. Im europäischen Vergleich ist die Anzahl der Spenderorgane aber von vielen Dingen abhängig: Gesetzgebung, Finanzierung, Organisation und Infrastruktur der Organvermittlung, öffentliches Interesse, persönlicher Reichtum und schließlich dem später erwähnten möglichen Spenderpool [siehe 1.4] [35].

In den ET-Ländern ist das Verhältnis zwischen den gelisteten Empfängern und den postmortalen Spenderlebern bei 1,5:1 (Stand: Ende 2010). In den USA dagegen liegt das Verhältnis deutlich schlechter bei 4:1.

1.3. Regelung zur postmortalen Organspende

1.3.1. Zustimmungslösung

Die Zustimmungslösung stellt eine Möglichkeit der Organspende dar, die in Dänemark, Großbritannien, den Niederlanden und in Deutschland bis Ende 2012 zum Einsatz [36]. Dort muss der potenzielle Organspender bei Lebzeiten der Organentnahme nach seinem Tod aktiv und mit freiem Willen zugestimmt haben. Die Zustimmung oder Ablehnung wird in Deutschland bisher schriftlich in einem Organ- und Gewebespenderausweis dokumentiert [TPG §2, Abs. 2]. Wenn dieses zeitlebens nicht erfolgt ist, tritt in den genannten Ländern die Erweiterung der Zustimmungslösung ein.

In diesem Fall müssen die Angehörigen in dieser extrem belasteten Situation den ihnen bekannten mutmaßlichen Willen des möglichen Organ- oder Gewebespenders zur Wahl der Zustimmung oder Ablehnung der Organentnahme einschätzen [TPG §4, Abs. 1].

1.3.2. Widerspruchslösung

Die Zustimmungslösung stellt eine Möglichkeit der Organspende dar, die in der Mehrheit der europäischen Ländern, darunter Spanien oder Österreich zum Einsatz kommt [36]. In diesem Fall muss der Organ- oder Gewebespende zeitlebens der Organentnahme ebenfalls aktiv widersprochen haben. Die Dokumentation erfolgt z.B. in einem Widerspruchsregister oder in einer schriftlichen Ablehnung [37]. Hat der Spender das nicht gemacht, stimmt er dadurch automatisch der Organentnahme nach seinem Tod zu. In einigen Ländern gibt es die Erweiterung der Widerspruchslösung bei der die Angehörigen in die Entscheidung ähnlich der erweiterten Zustimmungslösung mit einbezogen werden.

Die Widerspruchslösung wird neben der besseren Strukturierung von vielen Experten als ein Teil zur Steigerung der Anzahl der Organspenden angesehen.

1.3.3. Entscheidungslösung

Der Begriff der Entscheidungslösung bzw. Selbstbestimmungslösung ist relativ jung und aktuell in Deutschland in medizinischer, ethischer und abgeschlossener politischer Diskussion. Diese beschreibt die „Entscheidungspflicht für oder gegen die Organspende“ nach dem Tod [38]. Die Dokumentation dieser Wahl wird z.B. zukünftig in der elektronischen Krankenversicherungskarte festgehalten. Der Zeitpunkt der Entscheidung soll verbindlich im Laufe des Lebens gewählt werden, z.B. in Form von regelmäßigen Befragungen im 3-Jahresabstand. Damit unterscheidet sich diese Möglichkeit zur Organspende durch einen Organ- und Gewebespenderausweis, welcher freiwillig ohne Festlegung des genauen Zeitpunktes auszufüllen ist.

Die Entscheidungslösung hat seit dem 1.11.2012 die Zustimmungslösung ersetzt. Ein weiterer wichtiger Punkt im *Gesetz zur Regelung der Entscheidungslösung im TPG* ist die Intensivierung und zielgerichtete Aufklärung der Thematik der Organ- und Gewebespende in der Bevölkerung.

1.4. Möglichkeiten zur Erweiterung des Spenderpools

1.4.1. Koordination der Organspende

Die Ärzte im Krankenhaus sollten potenzielle Organspender auf Intensivstationen beurteilen und die Möglichkeit zur Organspende den Angehörigen in angemessener Weise nahe bringen. Diese Aufgabe sollte im Idealfall ein geübter ärztlicher Transplantationsbeauftragter übernehmen, der dafür geschult und finanziert wird. Diese Lösung ist in anderen Ländern wie Spanien üblich. In Deutschland ist diese Lösung noch nicht in allen Bundesländern bindend. Die DSO befürwortet diese Arbeitsweise in einem Positionspapier. Sie legt dort Anforderungen, Kompetenzen, Aufgaben und Weiterbildung der Transplantationsbeauftragten fest [39].

Der Krankenhausträger muss bei Kenntnis des potenziellen Organspenders seiner gesetzlichen Mitteilungspflicht an die Koordinierungsstellen oder direkt dem Transplantationszentrum nachkommen [TPG §11, Abs. 4].

In dem Prozess der Auswahl und erfolgreichen Koordinierung der möglichen Organ- und/oder Gewebespende stellt die DSO einen regionalen 24h/7d Telefondienst (bundweit sechs) als Hilfsinstrument zu Verfügung [40].

Dabei ist entscheidend, dass diese Richtlinie von den betroffenen Ärzten, Pflegekräften und Krankenhausträgern eingehalten werden. Die Nachhaltigkeit dieser Maßnahmen könnte jedem einzelnen Empfänger durch eine erhöhte Anzahl an Spenderorganen zu Gute kommen.

1.4.2. Lebendspende (LDLT)

Für Patienten, die über die Warteliste und deren Allokationskriterien kein bzw. nicht rechtzeitig ein Spenderorgan erhalten, können von der Lebendspende einer Leber (LDLT) – korrekt die Teilleber-Lebendspende bzw. Leber-Splitting bei Lebendspendern – profitieren. Die LDLT wurde erstmals 1989 am Kind und 1994 am Erwachsenen durchgeführt und galt für die Transplantationsmedizin bis dahin als unteilbares Organ [41,42]. Grundlage der Lebendspende ist die im menschlichen Körper einzigartige Regenerationsfähigkeit der Leber, die unter anderem von den intrahepatischen („oval cells“) und extrahepatischen Stammzellen ausgehen [43]. Dabei gilt dem Lebendspender die größte medizinische Sicherheit, z.B. durch eine geringe operative Morbidität und Mortalität. Typische Kontraindikation sind nicht sanierte Infektionen, aktuelles Tumorleiden oder ein schlechter Allgemein- und Ernährungszustand.

Die Gewährleistung für den Lebendspender, dass für den gelisteten Empfänger keine Spenderleber eines Leichnams zur Verfügung steht, ist eine zwingende Voraussetzung für die Lebendspende. Die Bereitschaft zur LDLT sank von 12,5% im Jahr 2001 auf 7% im Jahr 2010, das entspricht zuletzt etwa 90 LDLT bundesweit [29]. Als Empfänger einer LDLT sind nur „*Verwandte ersten oder zweiten Grades, Ehegatten, Verlobte oder andere Personen, die dem Spender in persönlicher Verbundenheit offenkundig nahe stehen*“ zugelassen [TPG §8]. Die Spende muss freiwillig und ohne finanzielle Anreize sein, dass wird von der Lebendspende-Kommissionen der Länderärztekammern in einer persönlichen Vorladung geprüft.

1.4.3. Heartbeating donors (HBD)

Weltweit ist die Organ- und Gewebeentnahme von hirntoten Spendern die Methode der Wahl. Dabei wird die Herz-Kreislauf-Funktion künstlich aufrechterhalten („heartbeating“). Die derzeitigen 1-, 5- und 10-Jahrespatienten-Überlebensraten liegen auf der Datenbasis des European Liver Transplant Registry (ELTR) bei Patienten unter 45 Jahren (bzw. über 60 Jahre) bei 84% (79%), 74% (64%) und 65% (49%) [6]. Mit der zunehmenden biologischen Alterung der Gesellschaft, dem Mangel an Spenderorganen und veränderten Hirntodursachen der Organspender (junge Unfallopfer vs. Hirnblutungen bei Älteren) wurde das Alter der Spender immer höher. Im Jahr 1990 war das durchschnittliche mediane Spenderalter bei 26 Jahren dagegen im Jahr 2009 bei 53 Jahren [28]. Dabei gibt es signifikante Überlebensunterschiede zugunsten der „jüngeren Lebern“ vs. der „älteren Lebern“ [6]. Zusätzlich steigt das Alter der Empfänger zur Organtransplantation insbesondere der LTx in Bereiche von über 60, 70 oder sogar 80 Jahren. Mit Berücksichtigung des biologischen Alters und dem geeignetem Management sind vergleichbare Ergebnisse im mittelfristigen Überleben zur Empfängerpopulation unter 60 Jahren zu erreichen. Im langfristigen Überleben zeigt der Trend eindeutig aufgrund von kardiovaskulären und onkologischen Komplikationen nach unten [44,45,46].

Ein seltenes Verfahren mit Einkehr bessere Operationstechniken und Operationsmanagement ist die Split-Leber bzw. Lebersplitting bei Hirntoten (SLT). Dabei wird eine Spenderleber eines hirntoten Organspenders durch das operative ex-vivo („back table“) oder im in-situ Splitting in zwei Empfänger transplantiert. Das ist sowohl bei Kindern erstmalig durch eine partielle LTx [47] als auch bei Erwachsenen über die full-Split-Leber [48] möglich. Dabei konnten die Überlebenschancen auf der

Warteliste für Kinder deutlich verlängert werden [49]. Auch für Erwachsenen sind die Ergebnisse einer monozentrischen retrospektiven Analyse aus den USA einer Split-Leber mit einem 1-, 5-, und 10-Jahrespazientenüberleben bei 93%, 77% und 73% gut. In beiden Fällen ist die postoperative Morbidität durch vaskuläre und biliäre Komplikationen nicht zu ignorieren [50].

1.4.4. Non-Heartbeating donors (NHBD)

Gleichbedeutend zum NHBD ist in den USA die aktuell gängige Bezeichnung „donation after cardiac death“ (DCD) bzw. in Großbritannien „donation after circulation death“ verbreitet. Für die HBD ist in den USA die Bezeichnung „donation after brain death“ (DBD) geläufiger, welche bei uns den hirntoten Spendern entsprechen.

Ein Herz- und Kreislaufstillstand (Nulllinien-EKG) von länger als 10Min. bei normaler Körpertemperatur („non-heartbeating“) kann als Hirntodäquivalent – auch ohne nachweislichen Hirntod – bezeichnet werden, so hieß es sinngemäß im Newsletter 1998 von ET [51]. In den USA sind es im Gegensatz dazu nach 2Min. Dauer die Organentnahme möglich. [52]. Jederart dieser Organe darf länderübergreifend nicht in Deutschland eingeführt oder transplantiert werden [53]. Im Gegensatz dazu sind die Spenderlebern von NHBD in Ländern

(Organisation) wie den USA (UNOS), Spanien (NTO), den Niederlanden (ET), Belgien (ET) und Großbritannien (British Transplantation Society, BTS) teilweise unter strengen Kriterien erlaubt [54,55]. In Großbritannien machen sie etwa 10% der gesamten Organtransplantationen aus [34]. In Belgien und Niederlanden ist die Rate bei 17% bzw. 34% deutlich höher [Tab. 2].

Land	HBD + NHBD (Gesamt)	NHBD (Gesamt)	Anteil
Belgien	263	45	17%
Niederlande	216	73	34%
	HBD + NHBD (Leber)	NHBD (Leber)	Anteil
Belgien	220	16	6%
Niederlande	138	22	7%

Tab. 2
Verteilung der HB/NHB Spenderorgane und Lebern nach Land 2010 [56]

Seit 1995 werden die NHBD in Europa nach dem Maastricht-Protokoll in fünf Gruppen eingeteilt und damit begrifflich eindeutig definiert. Jede Gruppe kann entweder einen

kontrollierten oder unkontrollierten Herz- und Kreislaufstillstand zugeordnet werden [Tab. 3]. Zunächst kam das Protokoll bei den Nierentransplantationen (NTx) mit überraschend großem Erfolg zum Einsatz [57].

Gruppe	Beschreibung		Lokalisation der NHBD
I	Herzstillstand bei Klinikankunft	Unkontrolliert	Unfallort/Notaufnahme
II	Erfolglose Reanimation	Unkontrolliert	Unfallort/Notaufnahme
III	Erwarteter Herzstillstand ¹	Kontrolliert	Intensivstation
IV	Herzstillstand nach Hirnstammtod	Kontrolliert	Intensivstation
V	Herzstillstand im Klinikaufenthalt	Unkontrolliert	Normalstation/Intensivstation

Tab. 3 Maastricht-Kriterien [58,59,60]. Einführung der Gruppe 5 im Jahr 2000 [61].

¹ Häufigster Fall eines Herzstillstandes nach Unterbleiben von lebensverlängernden Maßnahmen, der zur Transplantation knapp 90% der Fälle in Belgien und den Niederlanden benutzt wurde [56]

Eine Übersichtsarbeit von 2008 findet keine klinisch relevanten Langzeit-Überlebensunterschiede zwischen NHBD und HBDs [62]. Es scheint daher verständlich, die Ergebnisse auf die LTx übertragen zu wollen. Voraussetzung für eine LTx von NHBD ist in den meisten Fällen der kontrollierte – vorweggenommene – Herztod (Maastricht Gruppe III oder IV). Weltweit wird dieses spezielle Verfahren nur an wenigen hochqualifizierten Zentren mit unterschiedlicher länderspezifischer rechtlicher Grundlage durchgeführt. Die berechtigte Angst vor einer primären Non-Funktion der Spenderleber ohne alternative medizinische Ersatzverfahren, außer der erneuten mortalitätsbehafteten Re-LTx ist hoch [6]. Merion et al. konnte von 472/24.070 NHB-Spenderlebern (2% aller Spenderorgane) eine Odds ratio (OR) von 1,85 (95%-CI 1,51-2,26; $p < 0,001$) berechnen. Im Einzelfall wäre das Risiko für einen Empfänger mehr als doppelt so hoch, dass seine Spenderleber versagt [63].

Dieser Nachteil mit seinen prädiktiven Eigenschaften (Alter, Rasse, Fettleber, Hyponatriämie) führten zum nicht klar definierten Ausdruck marginales Spenderorgan, worin die NHBD eingeschlossen sind. Für die Wahl einer marginalen Spenderleber sind besondere Kriterien zur Transplantation erarbeitet: „extended criteria donors“ (ECD) [64] und von der BÄK in modifizierter Form veröffentlicht worden. Diese schließt die

NHGD aber kategorisch aus [65]. Mittlerweile werden in Deutschland Organe transplantiert, wo der Spender mindestens ein dieser Kriterien erfüllt.

Die Ergebnisse aus den frühen 90er Jahren waren in einer kleinen Anzahl von unkontrollierten NHBD (Gruppe 1: $n = 6/10$) und kontrollierten NHBD (Gruppe 2: $n = 6/7$) zuerst sehr enttäuschend. In der ersten Gruppe (G1) versagten 50% der transplantierten Lebern (3/6). In der zweiten Gruppe (G2) gab es kein Organversagen (0/6). Die 1-Jahres-Patientenüberlebensrate betrug in G1 67% und G2 50%. Auffallend war allerdings, dass die 1-Jahres-Transplantatüberlebensrate in G1 bei nur 17% und in G2 bei 50% lag [66].

Eine retrospektive Analyse auf Basis der UNOS-Datenbank aus dem Jahr 2004 konnte deutlich bessere Ergebnisse zeigen. Es wurden NHBD ($n = 144$) und HBDs ($n = 26,856$) verglichen. Der größte Teil der Spenderleber waren kontrollierte NHBD ($n = 117/144$). Die signifikante 1-Jahres-Transplantatüberlebensrate lag hier bei 70,2% vs. 80,4% ($p = 0,003$). Die nicht signifikante 1-Jahres-Patientenüberlebensrate lag bei 79,7% vs. 85% ($p = 0,082$). Trotz der guten Ergebnisse gab es unter den NHBD zu den HBDs eine erhöhte absolute Rate von primärer Non-Funktion von 5,4%

($p = 0,008$) und nach Re-LTx von 5,6% ($p = 0,04$) [67]. Eine große monozentrische retrospektive Analyse aus den USA, die 2009 publiziert wurde, zeigte sehr zuversichtliche nicht signifikante Überlebensraten zwischen HBDs und NHBD. Von 1436 Spenderlebern wurden 1328 (92,5%) HBDs und 108 (7,5%) kontrollierte NHBD (Maastricht Gruppe III) transplantiert. Die 1-, 3- und 5-Jahres-Transplantatüberlebensrate lagen bei 81,6%, 74,7% und 69,1% vs. 79,3%, 74,5% und 71,0% ($p = 0,511$). Die 1-, 3- und 5-Jahres-Patientenüberlebensrate lagen bei 87,3%, 81,1% und 77,2% vs. 91,5%, 88,1% und 88,1% ($p = \text{k.A.}$) [68]. Die zuletzt genannten amerikanischen Überlebensanalysen konnten aus den ET-Ländern Belgien und Niederlanden bestätigt werden [69,70]. Wiederum andere Arbeiten zeigen minimal geringes Transplantat- und Patientenüberleben [71]. Um diese guten – aber retrospektiven – Daten in das Gesundheitssystem umzusetzen, brachte die Amerikanische Gesellschaft für Transplantationschirurgie (ASTS) 2009 Praxisempfehlungen und die Britische Transplantationsgesellschaft (BTS) 2010 eine Konsensus-Leitlinie zum Umgang mit NHBD heraus [52,72].

Die zukünftige Relevanz der NHBD ist von vielen Seiten unbestritten [55,73]. Eine kleine prospektive Analyse bekräftigt die NHBD zur Erweiterung des Spenderpools [74]. Knackpunkte der NHBD sind weiterhin die warme Ischämiezeit, die Lagerung, die

mangelnde Erfahrung mit deren Umgang und die postoperativen Komplikationen (Biläre Komplikationen von bis 47%, ischämische Cholangiopathie von bis zu 34% [71]).

An deren Förderung und Umsetzung zur Etablierung muss weiter gearbeitet werden.

1.5. Vergrößerung des ischämischen Zeitfensters

1.5.1. Grundlagen des Zellschadens

Bei ausreichender Ischämiedauer eines Gewebes oder Organs ist immer ein unwiderruflicher Schaden verbunden. Der Zeitraum der Minderversorgung mit Sauerstoff (O₂) und Nährstoffen kann in der Transplantationsmedizin in warme und kalte ischämische Zeit getrennt werden. Ersteres bezeichnet die ungewollte Phase nach Herz- und Kreislaufstillstand einhergehende O₂-Schuld einzelner Organe und Gewebe durch ein erliegendes Perfusions- und Ventilationsdefizit. Durch die unterschiedliche Toleranz einzelner Organe mit der Hypoxie umzugehen, ergeben sich erhebliche klinisch relevante Unterschiede in Toleranz der Ischämiedauer [Tab. 4] und damit für den Zeitpunkt der Transplantation. Die kalte Ischämiezeit bezeichnet die gewollte Phase, die durch eine protektive Organkonservierung ohne größere Ischämieschäden am Spenderorgan- oder Gewebe zustande kommt.

Organ	Warme Ischämiezeit (h)	Kalte Ischämiezeit (h)
Leber	2,5 (UW)	12-18 (HTK) 17 (UW)
Niere	2,5 (UW)	48 (HTK) 23 (UW)
Herz	k.A.	4-6 (HTK)
Pankreas	2,5 (UW)	12-18 (HTK) 21 (UW)

Tab. 4 Mittlere klinische Ischämiezeiten einzelner Organe abhängig von der Konservierungslösung [Quelle: Herstellerangaben]

Der Schädigungsgrad des Gewebes oder der Organe ist zum größten Teil von der Stoffwechselaktivität abhängig. Die Grundlage für die Zelle auf eine Hypoxie zu reagieren, ist die zelluläre anaerobe Glykolyse. Dabei kommt es zur Reduktion des Pyruvats zum sauren Laktat. Das Laktat wird aus den Zellen transportiert und verursacht eine metabolische Azidose. Durch die Azidose sind viele Stoffwechselwege durch Enzymhemmung gestoppt bzw. verändert. Ein Beispiel ist die Bildung von

Harnsäure aus Xanthin/Hypoxanthin mit vermehrter Anreicherung von reaktiven Sauerstoffspezien (ROS) beispielhaft das Superoxidanionen. Diese können zu Hydroxylradikalen umgewandelt werden und schwere Zell- und Gewebeschäden über eine Lipid-Peroxidation von Hepatozyten und Endothelzellen verursachen [75,76]. In der aeroben Glykolyse entsteht bei vorhandenem O₂ aus dem Pyruvat dagegen das Acetyl-Coenzym-A, welches über den Citratzyklus in die Atmungskette eingeleitet wird. Das wichtige Adenosintriphosphat (ATP), der Energielieferant jeder Zelle, entsteht im unterschiedlichen Ausmaß bei der anaeroben (2mol ATP) als auch bei der aeroben Glykolyse (36-38mol ATP). Durch den Energiemangel der Zelle werden die ATP-abhängige Ionen-Pumpen (Antiporter: Natrium/Kalium und Natrium/Calcium) gehemmt. Es kommt zu einer verminderten aktiven Ausfuhr von Natrium. Dem erhöhten intrazellulären Natrium und den ungehinderten Einstrom von Chlorid folgt nun extrazelluläres Wasser (Interstitium, Gefäße) mit Bildung eines Zellödems und späteren Zellschadens [77]. Der Zellschaden führt bei noch minimaler ATP-Konzentration kontrolliert in die Apoptose oder ohne ATP-Reserven nicht kontrolliert in eine Zellruptur. Dem ischämischen Schaden durch die verminderte Durchblutung folgt der Reperfusionsschaden mit vermehrter Durchblutung, gemeinsam als Ischämie/Reperfusionsschaden (IRI) bezeichnet wird. Durch die Erwärmung der Spenderleber in vivo steigt der Metabolismus des Gewebes. Die zellulären Schäden addieren sich zu den Ischämie-bedingten Schäden durch eine weitere Verringerung der Energiereserven (ATP-Speichern). Es folgt eine massive Ausschüttung von Zytokinen, Mediatoren und Aktivierung von Pathways, die den Schaden um ein vielfaches verstärken [78]. Zusätzlich kommt es einer irreversiblen Schädigung der Sinusendothelzellen (SEC), Adhäsion von Leukozyten und Thrombozyten mit Folge von Mikrozirkulationsstörungen, die wiederum zum Schaden der Reperfusion beitragen [79]. Diesen Circulus vitiosus gilt es durch Konservierungs- und/oder Perfusionslösungen zu vermindert bzw. gänzlich überhaupt einzuleiten.

1.5.2. Konservierungs-/Perfusionslösungen

Die Funktionen einer Konservierungslösung hängen maßgeblich von ihren Bestandteilen ab [Tab. 5]. Je nach Lösung sind unterschiedliche Aufgabenbereiche (organ-unabhängig) zu nennen:

- Elektrolyte: Bildung eines spezifischen Milieus zur Aufrechterhaltung der intra- bzw. extrazellulären Elektrolytzusammensetzung

- Puffer: Ausreichende Pufferung der intrazellulären/metabolischen Azidose
- Energieträger: Ausreichende Bereitstellung von Substraten zur Regeneration von energiereichen Phosphaten
- Antioxidantien: Pufferung von ROS
- Osmotika/Kolloide: Verhinderung eines intrazellulärem Ödems und eines perfusionsbedingtes Flüssigkeitsübertritt ins Interstitium
- Sonstige: O₂-Träger, NO-Vorläufer zur Vasodilatation, Substanzen zum mitochondrialen Protektion

	Bestandteile	Einheiten	UW^{#2}	HTK[#]	B-MPS^{#1}	O-MPS
Elektrolyte	Natrium (Na ⁺)	mmol/l	25	15	100	147
	Kalium (K ⁺)	mmol/l	100/25	9/1	25	4
	Calcium (Ca ⁺⁺)	mmol/l	-	0,015	0,5	-
	Magnesium (Mg ⁺⁺)	mmol/l	5	4	5	5
	Chlorid (Cl ⁻)	mmol/l	-	50	1	-
Puffer	Kalium-Phosphat-	mmol/l	25	-	25	-
	HEPES-Natrium	mmol/l	-	-	10	20
	Histidin/Histidin-HCl	mmol/l	-	180/18	-	-
	Tryptophan ^{##}	mmol/l	-	2	-	-
Energieträger	Ketoglutarat ^{##}	mmol/l	-	1	-	-
	Glucose ^{##}	mmol/l	-	-	10	-
	Fructose ^{##}	mmol/l	-	-	-	10
	Adenosin	mmol/l	5	-	-	5
Antioxidantien	Glutathion	mmol/l	3	-	3	-
	Allopurinol	mmol/l	1	-	-	-
	NAC	g/l	-	-	-	2,4
Osmotikum/ Kolloide	Mannitol	mmol/l	-	30	30	-
	Raffinose	mmol/l	30	-	-	-
	Ribose	mmol/l	-	-	5	-
	Lactobionate	mmol/l	105	-	-	-
	Gluconate	mmol/l	-	-	85	-
	PEG	g/l	-	-	-	40
	HES	g/l	50	-	50	-
Sonstige	Oxyglobin	g/dl	-	-	-	13
	OAC ^{##}	mmol/l	-	-	-	5
	LAS	mmol/l	-	-	-	5
	Adenin	mmol/l	-	-	5	-
Eigenschaften	pH-Wert (bei 25°C)		7,4	7,0-7,2	7,4	7,8
	Viskosität (bei 4°C)	cP	4,8	1,8	k.A.	k.A.
	Osmolarität	mosmol/l	320	310	300	300

Tab. 5 Chemische Zusammensetzung der Konservierungs- bzw. Perfusionslösungen

#	Inhaltsangaben weichen je nach Literaturangabe geringfügig voneinander ab
##	Bestandteile erfüllen teilweise mehrere von den aufgeführten Funktionen
1	Wird teilweise unter verschiedenen Markennamen vertrieben
2	Bestandteile sind zur besseren Übersicht unvollständig dargestellt
Abk.	PEG (Polyethylenglykol); HES (Hydroxyethylstärke); NAC (N-Acetyl-L-Cystein); OAC (O-Acetyl-L- Carnitin); LAS (L-Aspartat-Hemimagnesium)

Um den IRI-bedingten Zell-, Gewebe- und Organschaden zu verringern, werden die Organe in 4°C kalter Umgebung konserviert. Die Grundlage dafür ist eine deutlich verminderte Stoffwechselaktivität von 37°C auf 0-4°C um den Faktor 12-13 [80].

In Deutschland ist derzeit die Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat (HTK)-Lösung (Custudiol®), entwickelt von Bretschneider aus den 70er Jahren [81,82] und die visköse University of Wisconsin (UW®)-Lösung (Viaspan® = UW-SCS), von Belzer und Southard aus den 80er Jahren zur statischen Konservierung (SCS) von Spenderlebern zugelassen [80,83]. Es gibt unzählige Literaturangaben, in welche die extrazelluläre HTK- mit der intrazellulären UW®-Konservierungslösung („Goldstandard“ seit 1989 [84]) verglichen wurde. Eine systematische Übersichtsarbeit aus 2007 konnte keine signifikanten Unterschiede in den Surrogatmarker (akute Abstoßung, primäre Non-Funktion, verzögerte Organfunktion, Leberenzyme) als auch im Patienten- oder Transplantatüberleben finden. Es gab dagegen einen fraglichen klinisch-relevanten signifikanten Unterschied bei der postoperativen Galleproduktion ($p = 0,0001$), jedoch keinen in der biliären Komplikationsrate. Die Autoren schränken allerdings die Aussagekraft der Ergebnisse bei schlechter Studienlage (nur 2/11 waren randomisierte kontrollierte Studien (RCT) und es gab nur ein kurzes Follow-up) ein [85].

Eine bisher einmalige prospektive Arbeit bezüglich der NHBD, verglich die beiden Lösungen in einem fast 700 großem Patientenkollektiv bei physiologisch marginalen Lebern (PECD) von 435/700 (62%). In diesem Kollektiv wurden 28 NHBD (4%) eingeschlossen. Es fanden sich keine signifikanten Differenzen in der NHBD-Gruppe zwischen der HTK- vs. UW®-Lösung im 3-Monats- (90% vs. 88%) und 1-Jahres-Transplantatüberleben (71% vs. 88%) [86]. Eine retrospektive Arbeit auf Basis der amerikanischen UNOS-Daten von 2004 bis 2008 kam beim Einsatz der HTK-Lösung sogar zu einem konträren Ergebnis. Die errechnete Hazard ratio (HR) lag für die HTK-Lösung bei 1,44 (95%-CI 1,05-1,97; $p = 0,025$) in der Gruppe der NHB-Leber [87].

Später wurde von Belzer eine UW®-Maschinenperfusionslösung (Belzer-MPS, B-MPS = UW-MP) entwickelt, die in ihren Bestandteilen auf der UW®-Konservierungslösung basiert und für die oxygenierte Maschinenperfusion (MP) der Niere angepasst wurde [88,89,90]. Die eigentlich für die SCS gedachte HTK-Lösung lässt sich auch für die MP benutzen (= H-MPS). Zur Erprobung dieser Lösung in der experimentellen MP der Leber gibt es wenig Daten. Einige zeigen allerdings, dass die H-MPS im Rattenmodell der B-MPS gleichwertig sein soll [91].

Der Ansatz, zellfreie (azelluläre) Hämoglobin-basierende-O₂-Träger (HBOC) wie Oxyglobin® oder Hemopure® zur Verbesserung der Organ-Oxygenierung in der Transplantationsmedizin einzusetzen, ist neu. Bisher gibt es dazu nur einige wenige publizierte Arbeiten zur Reduktion des IRI oder der Verminderung der histopathologischen Nekrosen am Rattenmodell durch die Induktion der – aus dem Hämoglobin-Abbau bekannten – Hämoxxygenase 1 [92,93].

Oxyglobin® (HBOC-301) wird seit 1998 von der amerikanischen Firma OPK Biotech (früher: Biopure) zur Anämietherapie bei Hunden eingesetzt [94]. Das ähnliche Hemopure® (HBOC-201) hat seit 2001 die Zulassung für den humanen Gebrauch bei Anämie nach chirurgischen Eingriffen [95] und wird experimentell in der US Navy eingesetzt [96]. Beide Produkte sind von der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) und der European Medicines Agency (EMA) in ihrer jeweiligen Indikation genehmigt. Sie beinhalten als HBOC Rinderhämoglobin und zum Ersatz des fehlenden Blutvolumens eine modifizierte Ringer-Laktat-Lösung. Beide Produkte sind derzeit beim Hersteller nur teilweise länderspezifisch verfügbar (Stand: 5/2013).

Wir verwendeten neben dem Oxyglobin® eine Basis-Lösung, die in Köln bisher nur an Rattenlebern erprobt wurde [97] und nennen sie zusammen Oxyglobin machine perfusion solution (O-MPS).

1.5.3. Maschinenperfusion (MP)

Die MP ist ein hypo- oder sub-/normothermes dynamisches Verfahren zur Organkonservierung. Alternativ steht der MP die etablierte hypotherme statische Organkonservierung (SCS) gegenüber. Die Ära der MP begann Anfang bis Mitte des 19. Jahrhunderts und wurde erstmalig von Belzer Ende der 60er Jahre experimentell an Nieren erprobt [98,99].

Mit den gewonnenen Erfahrungen hat sich vor allem bei den marginalen Organen die Oxygenierung (O₂-Zufuhr) über die MP oder die venöse systemische O₂-Persufflation (VSOP) als sehr vorteilhaft erwiesen [100]. Schon Anfang der 70er Jahre wurde diese fast zwingend erforderliche Technik zur Konservierung an marginalen Lebern am Hundemodell ausprobiert [101]. Erste Grundlagen und Verbesserungen zur oxygenierten hypothermen MP (HMP) an Spenderlebern wurden von Minor aus Bonn veröffentlicht [97,102,103].

Die sub-/normotherme MP (s/NMP), sowie die HMP ist bei den Spenderlebern im Gegensatz zu den Spendernieren weiterhin nur experimentell und kein klinischer Standard. Es gibt publizierte Arbeiten im Rattenmodell zur HMP [104,105] und NMP [106], am Schweine- [107], Hundemodell [108] und am Menschen mit teilweise sehr guten Ergebnissen. Derzeit ist nur eine klinisch relevante prospektive Endpunktstudie zur MP an NHBD von Guarrera et al. aus dem Jahr 2010 publiziert [109].

Mögliche Vorteile und Nachteile der MP sind [110]:

- Verlängerung des Zeitfensters zur LTx und damit potenzielle Anhebung der nationalen und internationalen Verfügbarkeit des Organs,
- Bessere Mikrozirkulation,
- Kontinuierliche Bereitstellung von O₂ und Nährstoffen,
- Kontinuierliche Abtransport von schädlichen Metaboliten und Toxinen,
- Zugabe von immundepressiven und organprotektiven Substanzen,
- Verbessertes klinisches Outcome mit Folge des längeren Transplantat- und Patientenüberleben und
- Ökonomische Vorteile durch weniger Langzeitkomplikationen.

Dem gegenüber stehen die Nachteile:

- Organschädigung durch menschliche oder technische Fehler,
- Enormer logistische Herausforderung und erhöhter Arbeitsaufwand,
- Ökonomische Nachteile durch hohe Anwendungs-/Wartungskosten und Personalkosten.

1.6. Fragestellung

Es gibt zahlreiche Methoden den Spenderpool oder den Erfolg bzw. Nutzen einer LTx zu erhöhen. Wenn man sich auf die Erweiterung des Spenderpools konzentriert, sind die NHBD am wenigstens erforscht und klinisch etabliert. Für unsere Arbeitsgruppe erschien das Potenzial eines NHBD genau aus diesem Grund am Größten.

Zur LTx wurde das etablierte Rattenmodell zur Darstellung der Überlebenszeiten nach vorangegangener Warm- und Kaltischämie mit oder ohne MP ausgewählt.

Die zentrale Frage, die diese Dissertation klären soll, ist:

Führt die Wahl klinisch erprobter oder experimenteller Perfusionslösungen kombiniert mit einer einstündigen MP zu einem besseren Überleben nach der orthotropen LTx am marginalen Spenderorgan als die etablierte SCS mit einer Konservierungslösung?

2. Methoden

2.1. Wahl des Tiermodells

Zur Betrachtung der LTx ist das Rattenmodell ein etabliertes Standardverfahren. Die mikrochirurgischen Techniken wurden seit Beginn der 70er Jahre bis heute verfeinert oder teilweise revolutioniert [111,112,113]. Es sind schon 1998 mehr als 20 Methoden mit erheblichen Technikunterschieden beschrieben worden. Diese betreffen in den meisten Fällen verschiedene Naht- und Cuff/Stent-Techniken zur Anastomosierung von Vene, Arterie und Gallengang [114]. Zuletzt wurde an unserem Haus die Nahttechnik hinsichtlich einer deutlich verkürzten anhepatischen Zeit mittels knotenloser Naht verbessert [115].

2.2. Versuchstiere und Versuchsgruppen

Die Genehmigung der Versuche erfolgte am 15.03.2007 mit dem Aktenzeichen G0040/07 durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales – Abteilung Veterinärwesen [§8 Tierschutzgesetz, TierSchG]. Die Tierversuche entsprachen den Prinzipien der Labortierbehandlung nach NIH [Publication No. 85–23 revised 1985].

Die bestellten Versuchstiere waren männliche Ratten vom Lewis-Stamm mit einem Gewicht von 200-224g. Die syngenen Ratten zeichnen sich durch geringe immunologische Komplikation aus. Der Lieferant der Versuchstiere war Harlan Winkelmann GmbH (Deutschland, Bochen).

Die Tiere wurden nach Eintreffen mindestens sieben Tage in der Tierhaltung belassen, bevor sie für die eigentlichen Versuche benutzt wurden. Die Tierhaltung und Tierfütterung mit freiem Zugang zu Nahrung und Wasser am Campus CVK der Charité Berlin entsprach den gesetzlichen Anforderungen [nach TierSchG und Tierseuchengesetz]. Die Entsorgung der getöteten Tiere entsprach den Auflagen der Genehmigungsbehörden.

Die Gruppengröße richtete sich nach der in der Literatur publizierten minimalen Anzahl zum Effektnachweis ohne unnötige Tiere zu verwenden ($n = 5-6$). Das Studiendesign besaß eine Kontroll-Gruppe und drei Vergleichsgruppen. Aus den aktuell recherchierten Daten [Punkt 1.5.2.] haben wir uns für die HTK-Lösung gegen die UW®-Lösung in der Kontrollgruppe und in einer von drei MP-Vergleichsgruppen (H-MPS) entschieden. Die zwei anderen MP-Gruppen waren die B-MPS und O-MPS [Tab. 6].

	Versuchsnummer	n	Warm- ischämie	Kaltischämie (Dauer/Temperatur)	Verwendete Lösung
Kontrolle	HTK-K 009-015	6/6	1h	SCS (6h/4°C)	HTK-Lösung
H-MPS	HTK 001-008	6/8 [#]	1h	SCS (5h/4°C) +	HTK-Lösung
				MP (1h/4°C)	HTK-Lösung
B-MPS	MPS 001-006	5/6 [#]	1h	SCS (5h/4°C) +	B-MPS
				MP (1h/4°C)	B-MPS
O-MPS	OXY 007-011	5/5	1h	SCS (5h/4°C) +	Basis-Lösung
				MP (1h/21°C)	O-MPS

Tab. 6 Auflistung der Versuchsgruppen

Gesamtanzahl dieser Gruppe mit Ausschluss jener durch nicht händelbare Komplikationen (Blutung, großer Pneumothorax, unzureichende Leberentfärbung nach Perfusion).
Mit der HTK-Lösung wurden 40ml venös und 5ml arteriell zu Beginn der SCS gespült.
Mit der B-MPS und der Basis-Lösung (ohne Sauerstoffträger der O-MPS) wurden 20ml venös und 5ml arteriell gespült. Nach der SCS der Leber wurden venös mit 10ml und arteriell mit 2ml 0,9% NaCl die HTK-Lösung herausgespült.

2.3. Studiendesign

Jedes Spendertier wurde durch eine Phrenotomie getötet und die Leber einer Warmischämie unter Raumtemperatur (20°C) ausgesetzt. Sie induzierte eine gewollte Organschädigung als NHBD zum marginalen Spenderorgan. Nach 1h wurde die Warmischämie durch eine venöse Perfusion über die Portalvene (PV) von 20 bzw. 40ml und einer arteriellen Bolus-Gabe von 5ml über den Truncus coeliacus beendet. Alle verwendeten Lösungen der venösen und arteriellen Perfusion zur SCS waren 4°C kalt und enthielten, dass in Pulverform erhältliche Fibrinolytikum Streptokinase in einer Dosierung von etwa 7.500IE in 2,5ml NaCl gelöst. Die Zugabe soll durch Fibrinolyse der Blutgerinnsel die Mikrozirkulation verbessern [116,117].

Zur Simulation des klinischen Ablaufes wurde die blutleere marginale Spenderleber einer Kaltischämie von 5h bzw. 6h jeweils in 4°C kalter Lösung ausgesetzt. Nach Ablauf der 5h durchlief die Leber in drei Vergleichsgruppen (H-MPS, B-MPS, O-MPS) eine 1h-HMP bzw. 1h-sNMP in einem eigens konstruierten Versuchsaufbaus [Abb. 2]. Dabei wurde prä- und posthepatisch während der MP nach 5, 30 und 60 Min. eine Perfusatsprobe zur klinischen Chemie und Blutgasanalyse (BGA) entnommen. Die Kontrollgruppe dagegen wurde 6h als SCS gelagert. Während dieser Zeit wurde das Empfängertier zur Transplantation und die Leber nach Ablauf der SCS (5 bzw. 6h) operativ ex-situ vorbereitet. Es folgte die äußerst kritische anhepatische Zeit (Ziel: < 20Min.) am Empfängertier mit der eigentlichen LTx. Nach Beendigung der Operation wurde dem Tier postoperativ nach 5 Min. venös aus der Penisvene subkutan oder der V. cava superior perkutan Blut zur klinischen Chemie entnommen. Das Follow-up lag bei definierten 60d ohne medikamentöse Immunsuppression. Lebte das Tier bis zu diesem Tag wurde es unter Narkose getötet und eine Nieren- und Lebergewebeentnahme entnommen.



Abb. 2 Aufbau der Maschinenperfusion: Oxygenierung (▲) und Kühlsystem (▲). Arterieller Zulauf (→) und venöser Ablauf (→) der Perfusionslösung.

Der gesamte tägliche Versuchsablauf ist anhand einer Zeitskala in **Abb. 3** dargestellt:

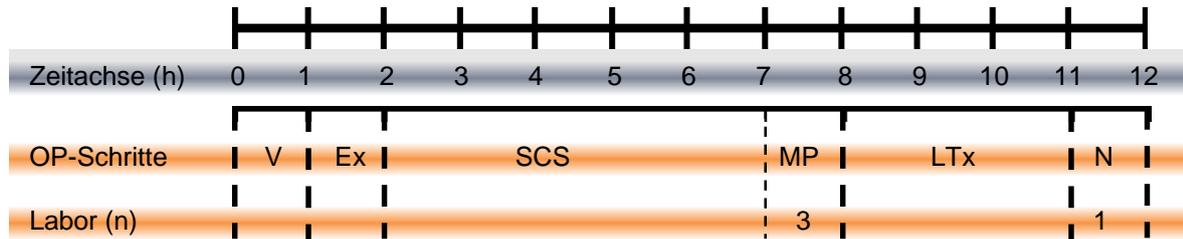


Abb. 3 Versuchsablauf mit OP-Schritten und Probengewinnung

Abk. V = OP-Vorbereitung; Ex = Organexplantation; SCS/MP = static cold storage/machine perfusion;

LTx = Lebertransplantation; N = Nachbereitung

2.4. Detaillierter Versuchsaufbau

2.4.1. Narkose/Operationsmanagement

Die Ratten wurden in ruhiger Umgebung aus ihrem Käfig in einem Plexiglaszylinder über ein Schlauchsystem aus dem Dräger Narkosegerät narkotisiert. Zur Inhalationsnarkose wurde das volatile Anästhetikum Isofluran (Forene®) mit zusätzlichen O₂ genutzt. Bei der Narkoseeinleitung (offenes System) und -erhaltung (halbgeschlossenen System mit Absaugung, **Abb. 4** und **6**) betrug die Isofluran-Fraktion jeweils 4% (+ 5l/Min. O₂) bzw. 0,5-2% (+ 1l/Min. O₂). Die postoperative Opioid-Analgesie bestand aus Tramadol subkutan (s.c.), einmalig präoperativ und alle 4-8h postoperativ mit einer errechneten Dosis von 0,5mg/250mgKG. Die Narkosetiefe wurde über die Vitalparameter (Herzfrequenz, Atemfrequenz, Blutdruck) und dem Muskeltonus abgeschätzt. Die Narkoseausleitung bei den transplantierten Tieren bestand aus der Beendigung der Isofluran-Zufuhr und Inhalation von O₂ (FiO₂ = 100%) bis zum Erwachen des Tieres. Dieses wurde zurück in seinen Käfig gelegt, 15Min. unter Rotlicht gehalten, mit Trinkwasser aus einer Petrischale versorgt und schließlich unter Lichtschutz geschont.

Die OP-Vorbereitung vor Narkose bestand aus Vollständigkeitskontrolle und Funktionsüberprüfung des mikrochirurgischen OP-Besteckes. Es folgten der Aufbau des OP-Tisches sowie das Zurechtlegen der keimarmen OP-Instrumente, Fäden, Kompressen, Q-Pads, Katheter und Ausrichtung eines Bechers mit physiologischer Kochsalzlösung [**Abb. 4**]. Die Ratte wurde nach Gewichtsmessung gründlich am Abdomen und an den Flanken rasiert und mit Desderman® desinfiziert. Sie wurde auf einem Korkbrett mit Hilfe von Pflasterstreifen über allen vier Extremitäten gelagert und fixiert. Zur Prophylaxe einer intraoperativen Hypothermie wurde zu Beginn der LTx eine

Heizdecke unter dem sterilen OP-Tuch platziert und die Kochsalzlösung (NaCl) über einen Babyflaschenwärmer auf 37°C erhitzt (beides in **Abb. 4** nicht zu erkennen). Die entnommenen postoperativen Leberwerte wurden in der Auswertung auf das Lebergewicht, was vom gemessenen Körpergewicht der Spenderratte abhängig ist, berechnet.



Abb. 4
OP-Platz zur Organexplantation

2.4.2. Aufbau und Durchführung der MP

Die MP bestand aus einer Pumpe, einem Kälte-/Wärmethermostat mit Kühlmittel, einem geschlossenen Kühl- und offenen Lösungskreislauf, einem eigens angefertigtem Glasgefäß, einem Oxygenator mit O₂-Zufuhr, einer Druckmessung und einer Luftfalle [**Abb. 5**].



Abb. 5
Details des Entlüftungssystem (*), der Leberperfusion (#) und der Druckmessung (+)

Die peristaltische Pumpe war auf 5ml/Min. eingestellt, was bei einer 10-12g schweren Rattenleber eine Perfusionsrate von etwa 0,4-0,5ml/Min./g Lebergewicht entspricht. Die Perfusionslösung ist von einem aufbereiteten sterilisierten Oxygenator gekühlt bzw. erwärmt und mit O₂ versorgt worden.

Die Oxygenierung [Abb. 2: ▲] wurde durch einen O₂-Wandanschluss und die Kühlung [Abb. 2: ▲] durch ein getrenntes Zweikammersystem für Perfusionslösung und Kühlflüssigkeit im Oxygenator gewährleistet. Das Thermostat stelle den gesamten Kühlkreislauf auf etwa 3-5°C (H-MPS und B-MPS) bzw. 21°C (O-MPS) ein. Um den Wärmeverlust durch das Schlauchsystem entgegen zu wirken, wurde das Gerät auf -2,8°C eingestellt. Die 21°C in der O-MPS wurden aus einer Hypothese heraus gewählt: Das HBOC kann seine Aufgabe vermutlich nur dann erfüllen, wenn eine minimale Stoffwechsel- oder Regenerationsaktivität, beispielsweise zum Aufbau von ATP und Abbau ROS besteht. Bei 4°C ist die Stoffwechsel- oder Regenerationsaktivität soweit reduziert, dass die O-MPS ihr Potenzial nicht ausschöpfen könnte, so die Vermutung. Deshalb wurde die subnormotherme Temperatur als Alternative zur substrat-verbrauchenden normothermen Temperatur gewählt.

Die Leber befand sich an der PV über einen 16G Katheter in dem aus dem Oxygenator stammenden Perfusat [Abb. 2: →]. Die drei vorgeschalteten Systeme waren:

1. Druckmessung über eine Heidelberger Verlängerung, die ohne Leber auf 0mmWs geeicht wurde.
2. Luftfalle, die eventuell produzierte Luftblasen im Schlauchsystem abfangen soll.
3. Drei-Wege-Harnsystem, zur Entnahme der prähepatische Perfusatprobe und zur Entlüftung des Systems direkt vor der Leber, aber nach der Luftfalle.

Das Perfusat wurde über den präparierten Trichter des rechten Herzvorhofs des Spendertieres aus der suprahepatischen V. cava inferior (SVC) aus der Leber in das Glasgefäß gepumpt. An dieser Stelle wurden die posthepatischen Laborproben entnommen. Nun wurde die Lösung vom Glasgefäß zurück zum Oxygenator gepumpt [Abb. 2: →].

2.4.3. Explantation der Spenderleber

Die Explantation einer Rattenleber dauert nach unseren Erfahrungen deutlich unter 1h. Die Anatomie einer Ratte unterscheidet sich nur wenig vom menschlichen Situs. Grundlegend ist mit größter Sorgfalt mit dem Tier und der Leber selbst umzugehen. Jede unnötige Organkontusion kann zur Messung falsch positiver Leberenzyme und

eventuell späterem Organversagen führen. Die Leber wird nicht mit den bloßen sterilen Handschuhen, sondern nur mit feuchten Kompressen und Q-Pads angefasst und mobilisiert. Alle Gefäßligaturen werden mit einem keimarmen Seidenfaden gesetzt. Alle venösen Gefäßanastomosen (A_{V1-3}) werden mit nicht-resorbierbaren monofilen Prolene®-Fäden genäht. Die arterielle (A_A) und biliäre Anastomose (A_B) werden mit Kunststoff-Stents gebildet und vernäht. Die operativen Schritte werden nachfolgend stichpunktartig verkürzt beschrieben und lückenhaft mit Fotos dargestellt:

- Mediane Laparotomie mit Flankenschnitt [**Abb. 6**]
- Durchtrennung des Lig. falciforme
- Ligation des V. phrenica sinistra infradiaphragmal (CAVE! Blutung) nahe der SVC (Anastomose $V1$, A_{V1}) [**Abb. 7**]
- Lösung des linken Leberlappen und der beiden kleinen unteren Leberlappen von ihren Ligamenta [**Abb. 8**]
- Ligation der V. oesophageales dorsal des linken Leberlappen
- Auslagerung des Darmkonvolut ohne Torquierung nach extrakorporal auf feuchten Kompressen und regelmäßige perioperative Feuchthaltung
- Präparation der infrahepatischen V. cava inferior (IVC) (Anastomose $V2$, A_{V2}) supra- und infrarenal [**Abb. 9**]
- Ligation der V. suprarenalis hinter dem linken Leberlappen
- Lösung des linken Leberlappens dorsal von den Zwerchfellschenkeln (CAVE! Pneumothorax) und Prüfung mit einem Q-Pad auf Vollständigkeit
- Hochlagerung der Leber unter Zug nach kranial
 - Der Zug verhindert das Einknicken der beiden großen Leberlappen mit Gefahr der Minderperfusion.
- Präparation der Venen: Ligation der V. pylorica zur PV (\emptyset bei 3mm) mit einem langem Stumpf belassen [**Abb. 10**]
 - Der Haltepunkt dient später zum indirekten berühren ohne an der Gefäßwand der PV selber zu manipulieren.
- Präparation des Gallenganges (\emptyset 1-2mm): Anatomische Freilegung mit Mobilisation bis zum Pankreas, Haltefaden setzen, Spannung, Vorderwand-Inzision, 24G-Stent Einführung, Sicherung des Stents im Gallengang mit einem Seidenfaden (Anastomose B , A_B), zuletzt die Hinterwand-Inzision [**Abb. 11**]

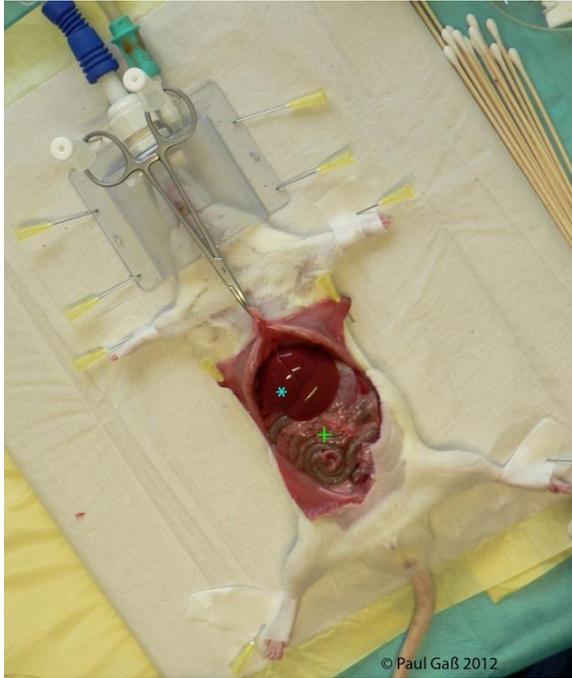


Abb. 6 OP-Lagerung mit Sicht auf die Leber (*) und Darmkonvolut (+)

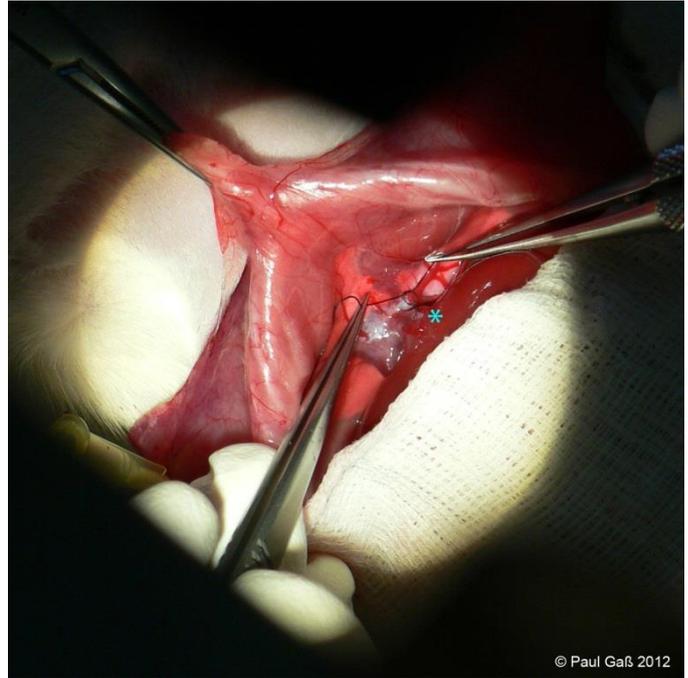


Abb. 7 Ligatur der V. phrenica sinistra (*)

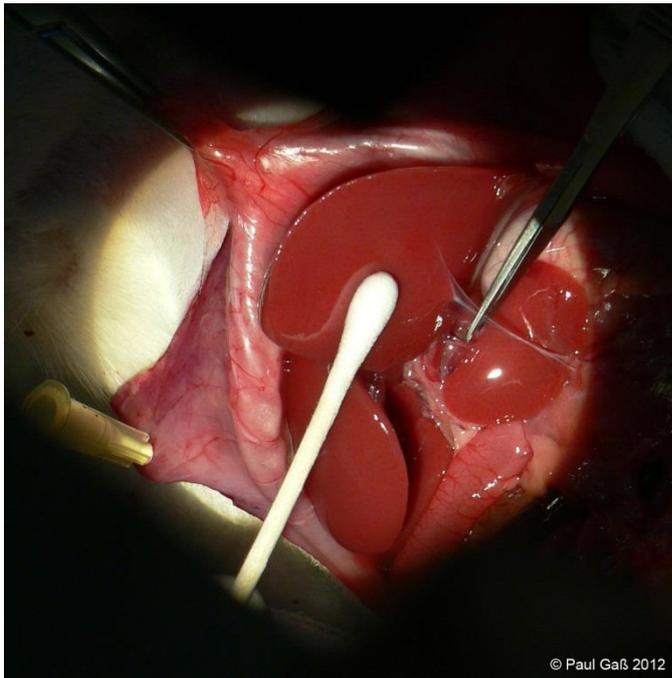


Abb. 8 Lösung der Ligamenta

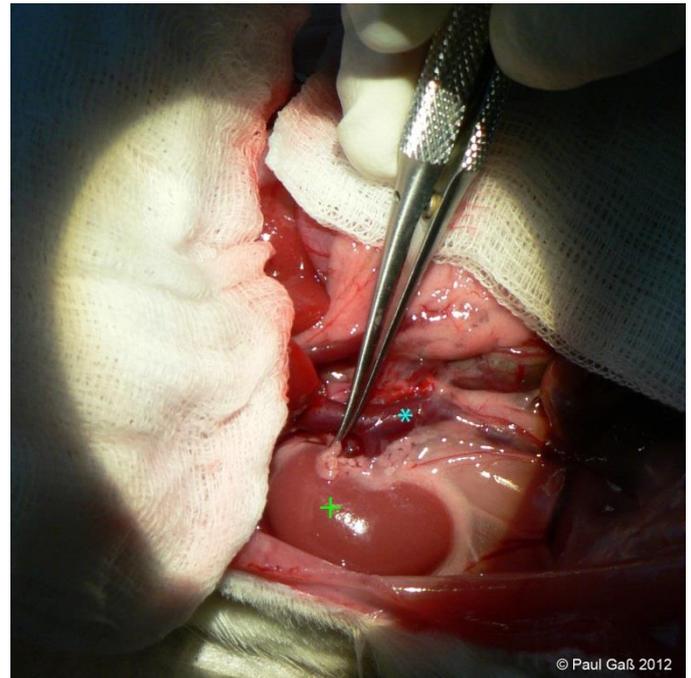


Abb. 9 Präparation der IVC (*) und Sicht auf rechte Niere (+)

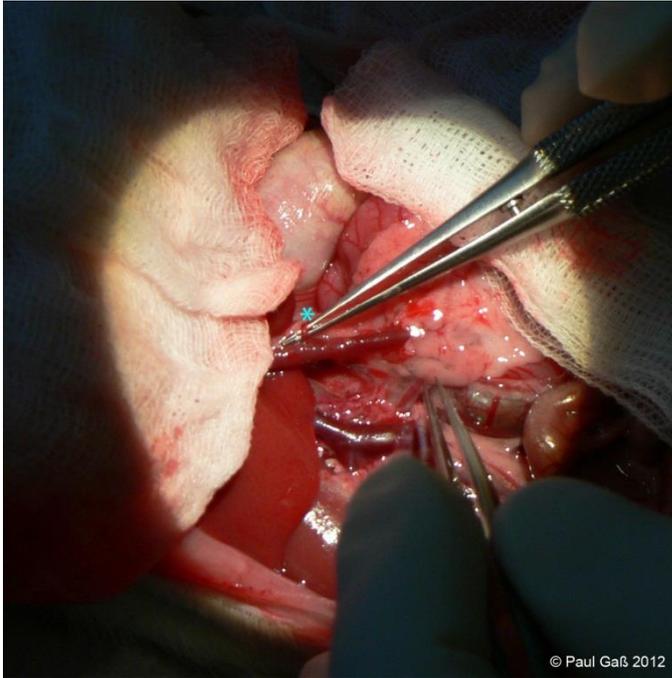


Abb. 10 Ligatur der V. pylorica (*)

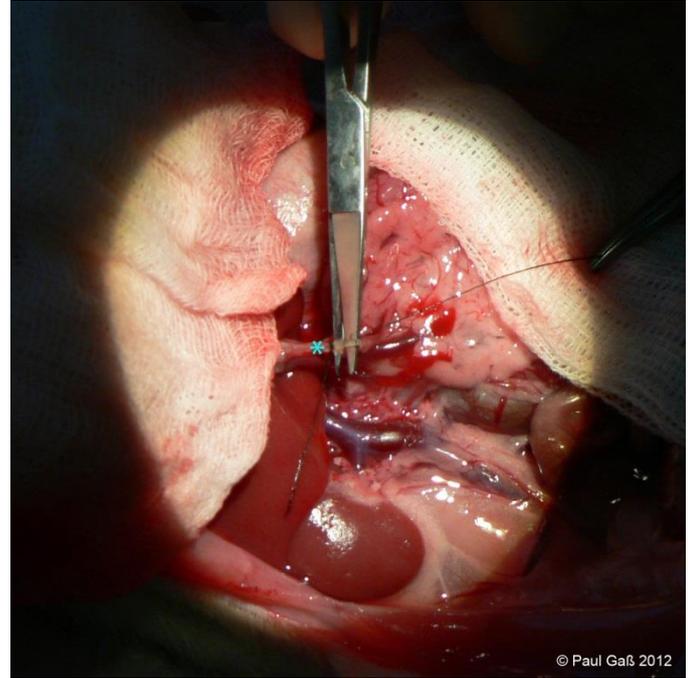


Abb. 11 Gallengang mit Stent (*)

- Präparation der Arterien: Ligation der A. gastroduodenalis unter Erhalt und Durchgängigkeit der A. hepaticae communis. Freilegung des Truncus coeliacus proximal und distal des Abganges der Aorta. Ligation der A. splenica und A. gastrica sinistra unter Erhalt der Durchgängigkeit vom Truncus coeliacus zur A. hepaticae communis [**Abb. 12-13**]

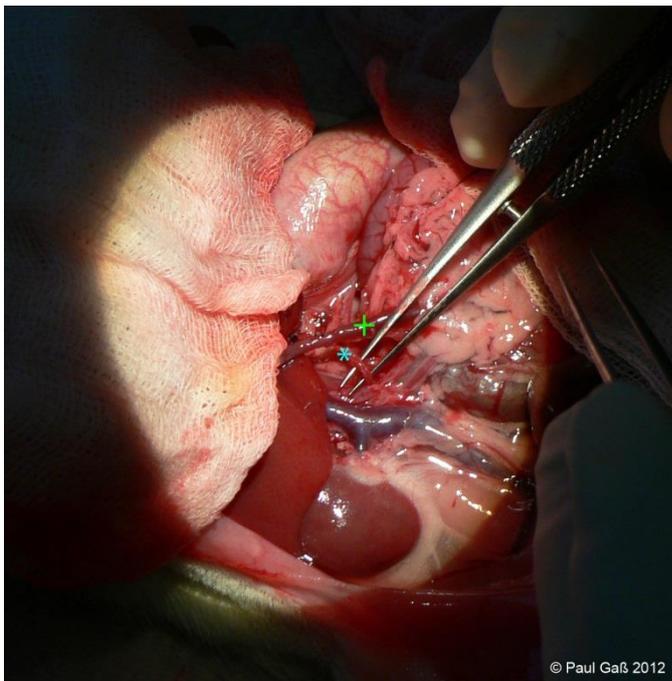


Abb. 12 Unterkreuzung des Truncus coeliacus (*) der PV (+)

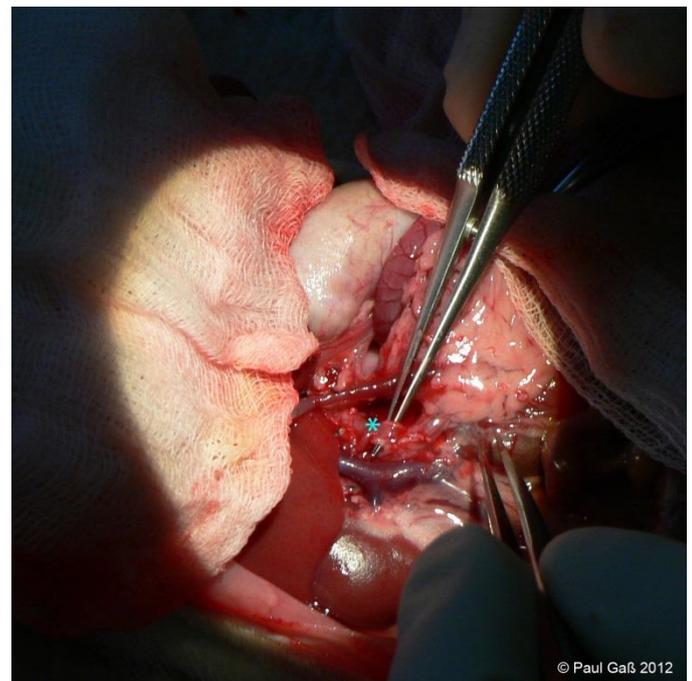


Abb. 13 Darstellung der Aorta (*)

- Tötung des narkotisierten Tieres: Zwerchfellinzision und Abklemmung der subkardialen Aorta (Beginn der einstündigen Warmischämie)
 - Die Abklemmung dient der Vermeidung einer weiteren Organperfusion.
- Kammerflimmern und Atmungsstopp → Narkosestopp
- Beginn der 5h bzw. 6h Kaltischämie durch die Vorderwand-Inzision der PV
- Einführung der tropfenden 16G Kanüle und luftfreier Infusion als SCS [Abb. 14-16]. Sicherung des Stents in der PV mit dem Seidenfaden (proximal davon: Anastomose V3, Av₃), Hinterwand-Inzision

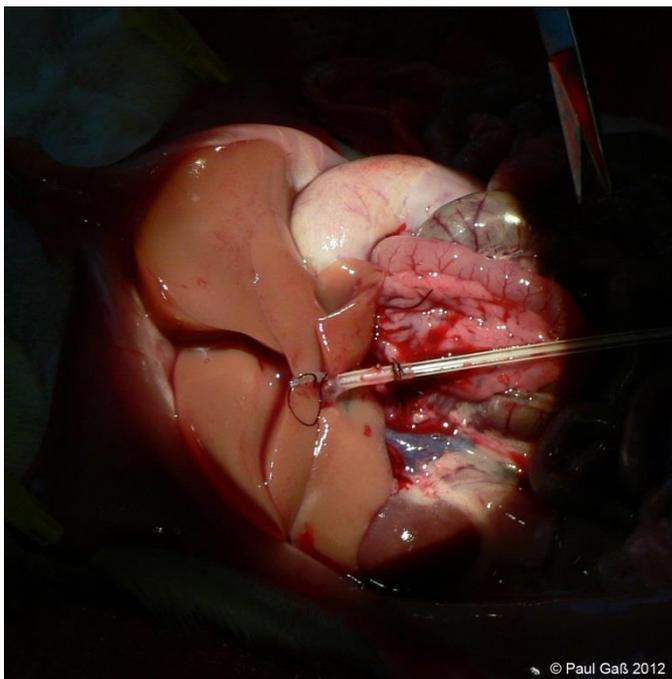
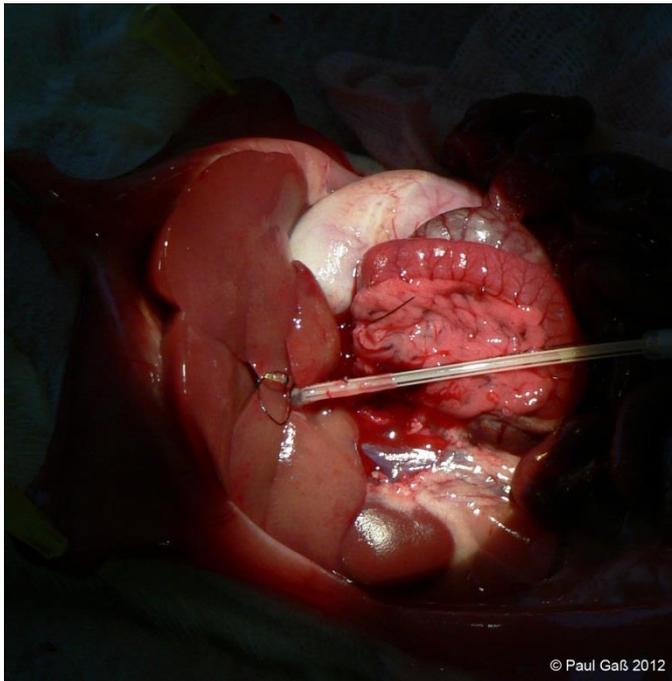


Abb. 14-16

Fortschritt von Beginn bis Ende der Infusion über die PV zur SCS mit vollständiger Entfärbung der Leber.

- Inzision der IVC unterhalb der Niere und SVC mit Teil des rechten Herzvorhofs
 - Die Inzision unterhalb der Niere verhindert posthepatische Druckspitzen, die durch den Kreislaufstillstand als Rückwärtsversagen bedingt sind.
 - Die Trichterbildung des Gefäßes zum rechten Vorhof hin, dient der späteren posthepatischen Perfusatkontrolle in der MP.
- Durchtrennung der präparierten Aorta proximal und distal des Truncus. Bildung eines T-förmigen Aortenpatches. Diesen längs aufschneiden [Abb. 17]
- Luftfreie Spülung mit mittlerem Spritzendruck durch den endoluminalen Abgang des Truncus coeliacus (Anastomose A1) mit der Perfusionslösung [Abb. 18-19]

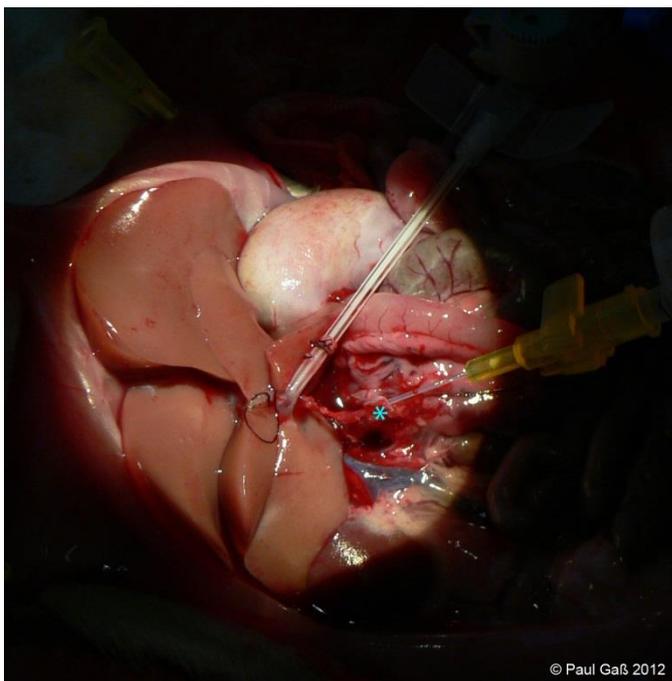
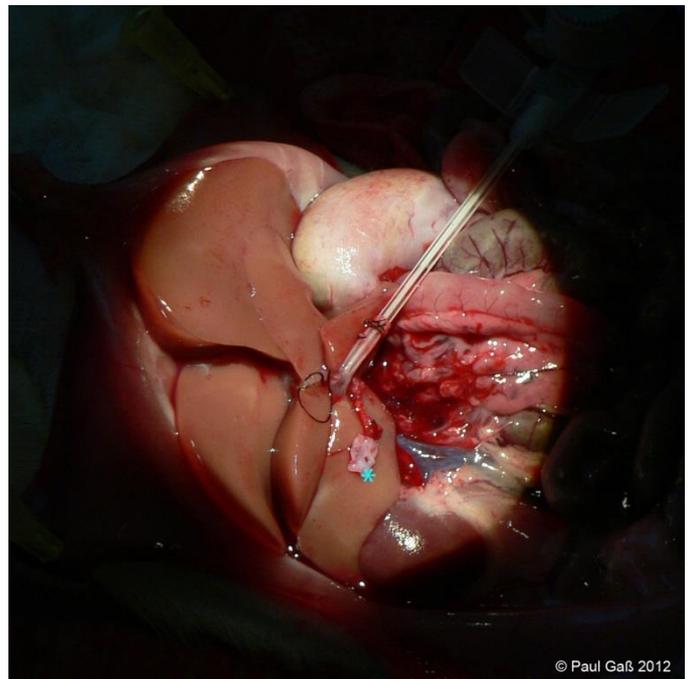
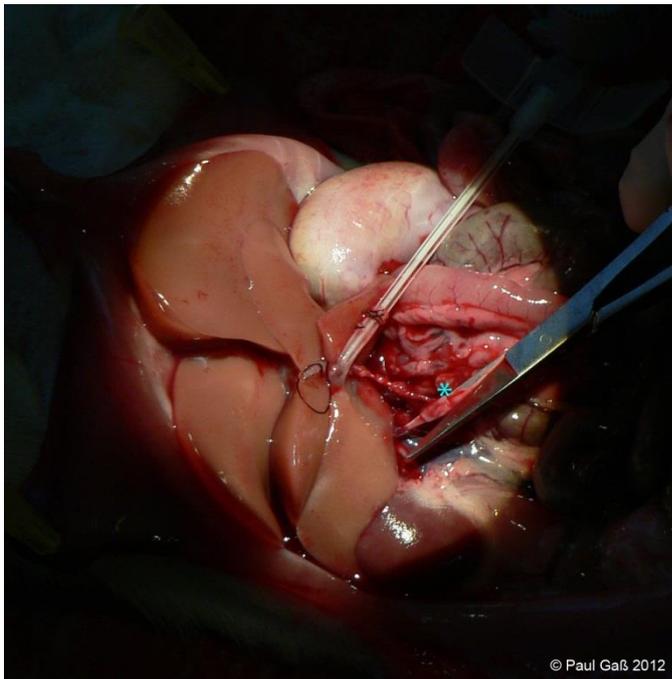


Abb. 17 (oben links): Längseinschnitt der Aorta (*)

Abb. 18 (oben rechts): Sicht auf den Abgang des Truncus coeliacus vom Aorten-Patch (*)

Abb. 19 (unten links): Bolus über den Patch (*)

- Leberentnahme: Quere Inzision der IVC oberhalb der Niere mit langem Stumpf an der Leber (Anastomose V2, Av₂) und proximal mit Setzung eines Metallclips. Durchtrennung der SVC thorakal am rechten Vorhof (proximal der Anastomose V1, Av₁) und der V. suprarenalis an der Nebenniere distal der Ligatur. Leber entfernen [Abb. 20-22].

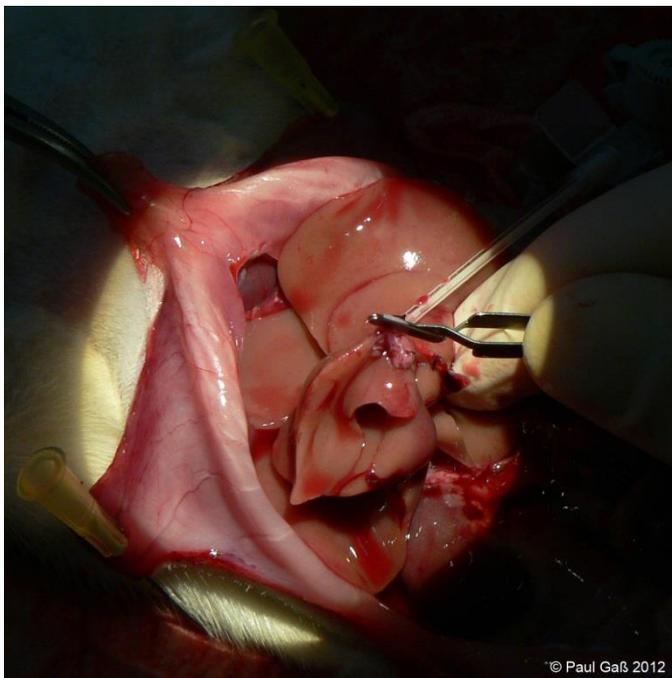
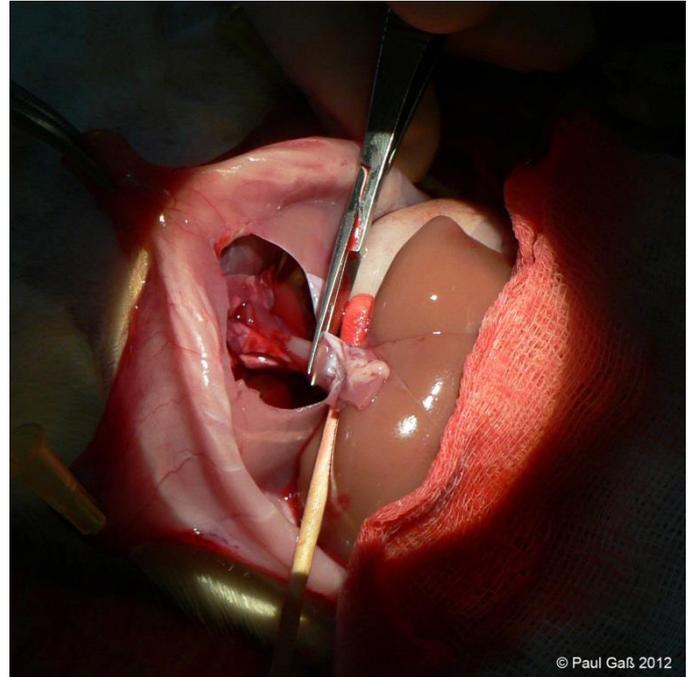
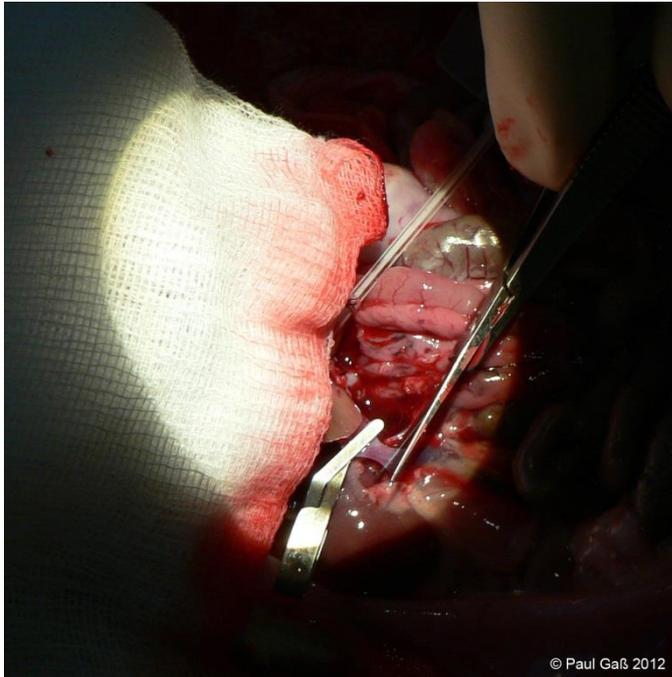


Abb. 20 (oben links): Einschnitt der IVC oberhalb der Niere zur späteren Anastomose

Abb. 21 (oben rechts): Einschnitt der thorakalen SVC. Q-Pad stellt die Rückenwand dar.

Abb. 22 (unten links): Entnahme der Leber

2.4.4. Statische Kaltkonservierung (SCS) und Transplantationsvorbereitung der Spenderleber

Die Kaltischämie beginnt mit der venösen Infusion an der über 1h in-situ belassenden Rattenleber. Gleichzeitig wird auch der arterielle Schenkel der Organversorgung als Bolus-Gabe durchspült. Die Leber wird nach der Durchspülung in der gleichen Konservierungslösung für 5h (in allem MP-Vergleichsgruppen) bzw. 6h in der Kontrolle in einem zertifizierten Kühlschranks in einem sterilen Becherglas aufbewahrt. Dabei ist auf eine vollständige Füllung des Bechers und auf die korrekte Temperatur des Kühlschranks zu achten.

Bei allen vier Gruppen muss unmittelbar vor Transplantation der Leber ähnlich dem „back table“ bei der humanen LTx an einem zweiten OP-Platz die Leber zur LTx vorbereitet werden. Dabei wird die Leber in 4°C kalter physiologischer NaCl-Lösung gelegt. Durch die geringe Flüssigkeitsmenge in der Petrischale und der erwärmenden OP-Lampe liegt die Petrischale selber in einer weiteren Eis-gefüllten Petrischale (in **Abb. 22-25** nicht dargestellt). Die Vorbereitung muss aus zwei Gründen so schnell wie möglich ablaufen: Erstens erwärmt sich die Leber trotz aller Maßnahmen relativ schnell und zweitens liegt das Empfängertier mit offenen operierten Situs am anderen OP-Platz. Die folgenden Schritte sind verkürzt beschrieben und lückenhaft mit Fotos dargestellt:

- Über den 18G-Katheter wird die Perfusions- bzw. Konservierungslösung venös mit 10ml NaCl-Lösung und über den Aortenpatch arteriell mit 2ml vollständig herausgespült.
- Der Vorhofrichter zur besseren isolierten posthepatischen Probeentnahme während der MP wird nun zur Anastomose (A_{V1}) kurz unter dem dargestellten Zwerchfell quer zur Gefäßwand der SVC abgeschnitten. Dieser Schritt ist einer der wichtigsten während der gesamten LTx. Wenn das Gefäß hier aus Übersichtsgründen nicht richtig gekürzt wird, reicht der verbliebene Gefäßstumpf später nicht zur spannungsfreien und vor allem schnell operierten Gefäßnaht [**Abb. 22**].
- Nun wird die PV proximal der Gefäßligatur mit dem enthaltenen Katheter gekürzt. Das Katheterstück wird aus dem Gefäß entnommen [**Abb. 23**].
- Darstellung der Vorder- und Hinterwand der PV und der jeweilige Umschlag beider. An der Hinterwand kurz vor Umschlag auf die Vorderwand wird ein 8-0 Prolene® mit langem Fadenende zur Spannung der Gefäßwand gesetzt [**Abb. 24**].

- Darstellung der Vorder- und Hinterwand der SVC und der jeweilige Umschlag beider. Auch hier wird eine Prolene® mit der Fadenstärke 7-0 an die Ecke der Hinterwand gesetzt. Hier benötigt man später keine Spannung der Gefäßwand, sondern hier wird fortlaufend genäht und mit dem kurzen Fadenende verknötet [Abb. 25].



Abb. 22 Kürzung der SVC mit Vorhoftrichter zur späteren Anastomose

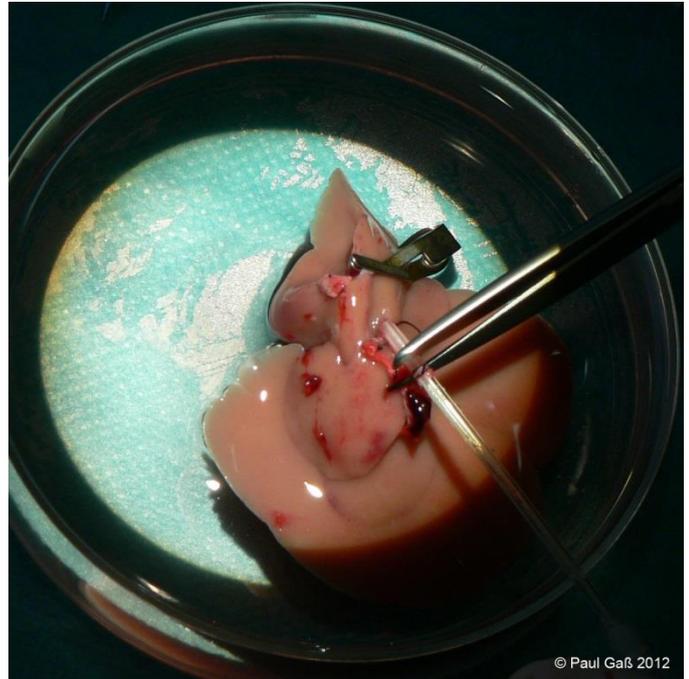


Abb. 23 Schnitt durch die PV proximal der gesetzten gefäßschädigenden Ligatur

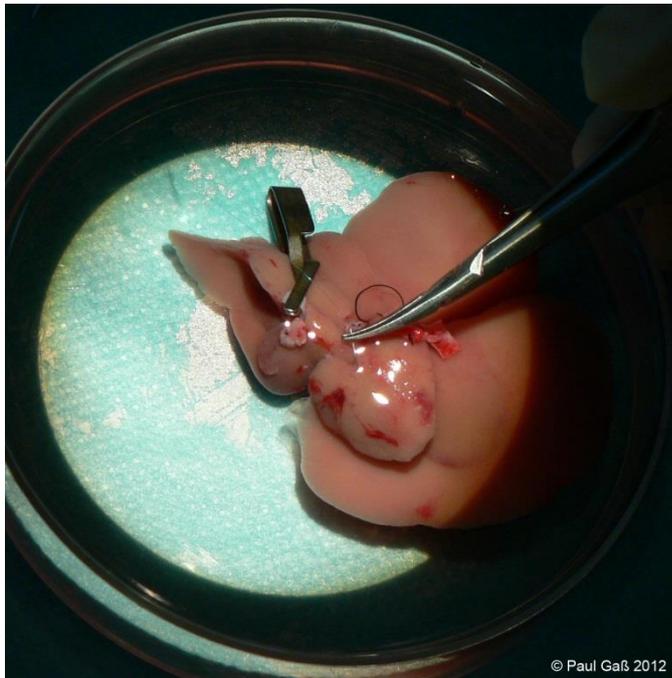


Abb. 24 Vorlage der Naht an der PV

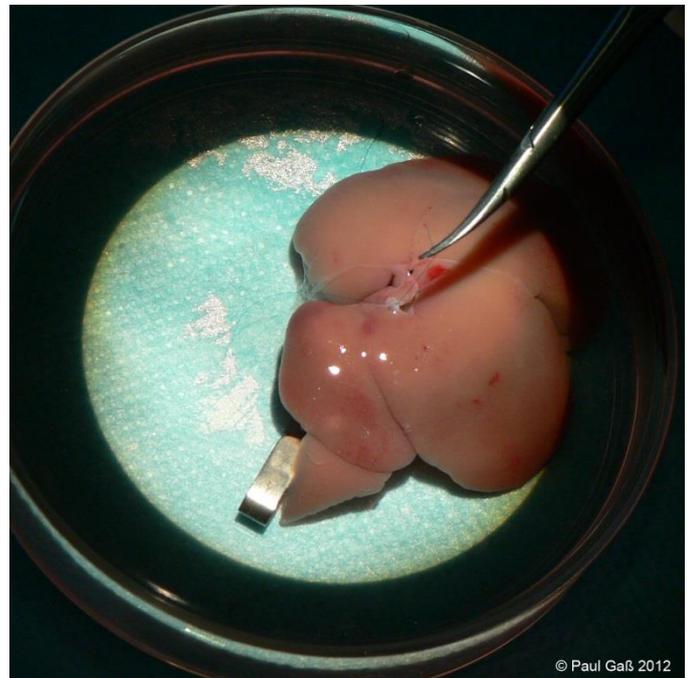


Abb. 25 Vorlage der Naht an der SVC

- Herausgespülte oder abgeschnittene Gewebestücke und Thromben werden aus der Petrischale entnommen. Die Leber wird vorsichtig von Blutresten, die die spätere Übersicht beeinflussen können, befreit.
- Hinweis: Die IVC wurde schon beim Spender zur Anastomose fettfrei präpariert und sauber gekürzt. Dort befindet sich der Metall-Clip auf dem Gefäß.

2.4.5. Transplantation der Spenderleber

Es gilt zu beachten, dass das Empfängertier präparatorisch so vorsichtig zu behandeln ist, wie die Spenderleber selber. Die Transplantation sollte wegen der Belastung des Tieres mit Vorbereitungen am „back-table“ maximal 2-3h dauern.

Das Empfängertier wird während der SCS bzw. MP zur Transplantation gleichzeitig vorbereitet. Die OP-Schritte unterscheiden sich grundlegend nicht von der Explantation am Spendertier. Die unterstreichenden Aufzählungen sind zur Explantation entscheidend zur Transplantation verschieden:

- Spülungen des Situs nur mit warmer (37°C) NaCl-Lösung und Benutzung einer Heizdecke unter dem sterilen OP-Tuch
- Mediane Laparotomie ohne Flankenschnitt
- Darmauslagerung mit feuchten und warmen Kompressen
- Ligation der V. suprarenalis hinter dem linken Leberlappen.
 - Die Ligatur verbleibt nicht an der Leber, sondern bei der späteren Leberentnahme am Empfänger.
- Präparation des Gallenganges: Anatomische Freilegung ohne Mobilisation bis zum Pankreas. Ligation und Durchtrennung distal der Aufzweigung zum rechten und linken Leberlappen am Hilus.
- Präparation der Arterien: Nach der Aufzweigung des Truncus coeliacus (Ø 1mm) in die A. hepaticae communis (Ø 0,25mm) und A. gastroduodenalis (Ø 0,25mm) beide fest ligieren und durchtrennen.
 - An beiden Truncus-nahen Ligaturen müssen dringend die Fadenenden lang bleiben. Wenn später beide Fadenenden voneinander weg aufgespannt werden, entsteht zwischen dem Truncus und den beiden ligierten Abgängen eine Y-Form. Zwischen den beiden Schenkeln sollte später zur Anastomose in die Vorderwand geschlitzt und ein Stent eingeführt werden

- Kontrolle, dass die Leber nur noch an vier Gefäßen (SVC, IVC, PV und V. suprarenalis) im Situs hängt
- Venöse Anastomosen (A_{V1-3}): Abklemmung aller vier Gefäße. Zur Autotransfusion des Empfängers die PV vorsichtig ausdrücken und die SVC am Zwerchfell abklemmen. Alle vier Gefäße lebernah durchtrennen und die Leber entnehmen. Mit der Durchtrennung der PV beginnt die anhepatischen Zeit. Nun das Korkbrett um 180°C drehen und die Spenderleber in den Situs hineinlegen bzw. über die Hand hineindrehten. Auf die genaue Technik zur Gefäßnaht wird nicht eingegangen. Naht der SVC mit dem ex-situ vorgelegten Prolene®-Faden (USP 7-0). Nach fortlaufender Gefäßnaht (A_{V1}) die SVC vor Schluss der Naht unter NaCl luftfrei knoten. Die PV mit einer anderen Gefäßtechnik (mit Aufspannung der hinteren Gefäßwand zur besseren Übersicht zwischen Vorder- und Hinterwand) oder auch mit einer fortlaufenden Prolene®-Faden (USP 8-0) ohne Aufspannung nähen. Hier ist zu beachten, dass der Wert der Anastomose (A_{V2}) davon abhängig ist, wie locker jedoch präzise die Gefäßnaht ist. Es gibt keine Möglichkeit erneut ein Leck zu übernähen oder eine zu enge Anastomose zu lösen. Die Erfahrung zeigte, dass stärkere Blutungen bei Eröffnung der Klemme durch Kompression mittels Q-Pad besser zu handhaben sind als eine zu enge teils thrombosierte PV.
- Bei einer dauerhaften lividen perioperativen Verfärbung des Darms, ist von einer Thrombose im Anastomosen-Bereich auszugehen. Meist liegt diese an der A_{V2} . Wenn das passiert, ist das Tier ohne Aussicht auf Überleben perioperativ zu töten.
- Nach Eröffnung der A_{V2} unter NaCl-Spülung die A_{V1} -Klemme lösen. Die anhepatische Zeit ist beendet.
- Naht der A_{V3} im infraheptischen Bereich. Beide Gefäßstümpfe haben eine Klemme zum Blutstopp. Diese sollten sicher dicht sein. Eine Sickerblutung aus einer der beiden Gefäße macht die Anastomosennaht fast unmöglich. A_{V3} erst nierennah lösen, unter NaCl entlüften und dann die lebernahe Klemme lösen. Jetzt sollte sich das Tier von den Kreislaufparametern deutlich stabilisieren.
- Zur Kreislaufstabilisierung kann über die Penisvene 2-5ml NaCl nach Öffnung der aller Anastomosen gegeben werden. Die Gabe erfolgte nach Bedarf.
- Arterielle Anastomose (A_A): Truncus coeliacus abklemmen und distal davon zwischen den beiden Y-Schenkel anschlitzten und ein Stent, wie er für den Gallengang benutzt wurde, vorsichtig in den Truncus einführen und mit einem Seidenfaden fest nähen. Die Klemme lösen und den arteriellen Blutfluss über den

Stent kontrollieren. Die Klemme nochmals schließen. Stent in den Aortenpatch der Spenderleber einbringen. Auf beiden Gefäßseiten ist jeweils noch ein langes Fadenende vorhanden. Diese beiden Fadenenden zusammen ziehen und verknoten. Klemme zur arteriellen Perfusionsfreigabe lösen.

- Biläre Anastomose (A_B): Beide Gallengänge vom Empfänger und Spender gekreuzt spannen. In den Empfänger-Gallengang in die Vorderwand schneiden. Den Spender-Gallengang über beide Fadenenden einbringen. Hierbei ist darauf zu achten, dass der Stent nicht zu kurz in beiden Gallengängen liegt. Es besteht sonst das Risiko einer Galle-Leckage.
- Kontrolle, ob alle Vitalfunktionen und Anastomosen gut sind. Wenn hier etwas nicht stimmt bzw. zu korrigieren ist, sollte das Tier nicht mehr aufwachen.
- Gabe von Opioid nach einem festgelegten Schmerzschema [siehe 2.4.1].
- Haut und Fasziennaht mit einem Ethicon PDS II®-Faden (USP 4-0)

2.4.6. Postoperative Schritte

Etwa 5Min. nach erfolgreicher Reperfusion wurde bei allen Empfängertieren in Narkose eine venöse Blutentnahme durchgeführt. Es wurden folgende Werte bestimmt und auf das Spenderlebergewicht (5% des Körpergewichtes) berechnet:

- Zellschäden und Leberwerte:
 - Zytoplasmatische Enzyme (= leichter Schaden): leberspezifische Alanin-Aminotransferase (ALT), leber*unspezifische* Laktat-Dehydrogenase (LDH)
 - Mitochondriale Enzyme (= schwerer Schaden): leberspezifische Glutamat-Dehydrogenasen (GLDH), leber*unspezifische* Aspartat-Aminotransferase (AST)

Das Follow-up lag bei vorher definierten 60d. Jedes Tier wurde täglich auf sein Befinden kontrolliert. Lebte die Ratte nach 60d, wurde sie unter einer Isofluran-Narkose per Zwerchfellinzision und Vorhofeinschnitt getötet und fachgerecht entsorgt. Es wurden vorher folgende Laborwerte stellvertretend für die genannten Parameter präfinal aus der IVC als Funktions- und Schadenswerte ohne Berechnung auf das Lebergewicht entnommen:

- Zellschaden und Leberwerte:
 - Zytoplasmatisches Enzyme (= leichter Schaden): leberspezifische ALT, leberunspezifische LDH
 - Mitochondriales Enzyme (= schwerer Schaden): leberspezifische GLDH, leberunspezifische AST
 - totales Bilirubin (t-Bili)
- Lebersyntheseleistung über die Blutgerinnung:
 - International Normalized Ratio (INR)
 - aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)
- Niere:
 - Kreatinin (Krea)
 - Harnstoff (Hst)

Zusätzlich wurden jeweils zwei Leber- und Nierengewebeproben herausgeschnitten. Die ersten beiden Proben wurden in Formalin konserviert, die zweiten beiden in Alufolie verpackt in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Es folgte die spätere Aufarbeitung in Paraffin mit HE-Färbung zur Histologie und letztere bei -80°C Lagerung zur späteren Immunhistochemie (Daten liegen zur Auswertung derzeit nicht vor).

2.5. Geräte und Hilfsmittel

Ein Ausschnitt der wichtigsten benutzten Geräte und Hilfsmittel zur Operation und MP:

- Blutgasanalysegerät und Gerät zur Hämoglobinsättigungs(SHb)-Messung: Radiometer ABL 700 Series und Radiometer OSM™ 3 Hemoximeter™
- Oxygenator: Sorin Group EOS D905 ohne Hardshell Reservoir (Artikelnummer: 050512). Er fasst ein Volumen von etwa 160ml Perfusat und hat eine Wärme- bzw. Kälteauschfläche von 14cm². Die Membranoberfläche besteht aus mikroporösen Hohlfasern (Ø 30µm) aus Polypropylen. Zur Verhinderung der Anheftung von Erythrozyten an das Polypropylen ist mit einem Double-Layer namens P.H.i.S.i.o (Phosphorylcholine inert surface) beschichtet [118].
- Rollerpumpe: Peristaltische Cole-Parmer Easy-Load® Masterflex® L/S® (Artikelnummer: 7518-00) mit den entsprechenden Schläuchen
- Thermostat: Huber Ministat® Kälte/Wärmethermostat mit für das Gerät geeigneten Kühlflüssigkeit

- Mikroskop: Leica Stand-Mikroskop M651 (älteres Modell benutzt) für mikroskopischen Operationen mit 6x, 10x und 25x Vergrößerung.
- Nahtmaterial:
 - Geflochtener nicht-resorbierbarer Resorba Seidenfaden schwarz USP 6-0 100m
 - Monofiler nicht-resorbierbarer Ethicon Prolene® blau USP 7-0 (Artikelnummer: KHH5643H) und USP 8-0 (Artikelnummer: EH7470E) jeweils 45cm mit einer 3/8-Rundkörper-Nadel beidseits mit einer Bogenlänge von 6,5mm
 - Monofiler resorbierbarer Ethicon PDS II® schwarz USP 4-0 70cm mit einer geraden 60mm langen Nadel (Artikelnummer: Z662H)
- Katheter/Infusionssystem:
 - BD Venflon™ Pro 16G 1,8x45mm
 - BD Neoflon™ 24G 0,7x19mm
 - Fresenius Kabi Infudrop
 - Fresenius Kabi Heidelberger Extension 75cm

2.6. Datensuche, Datenerfassung und statistische Auswertung

Das Literaturverwaltungsprogramm war Thomson Reuters Endnote X5. Die Literatur wurde in der Medline-Datenbank über Pubmed, in SpringerLink oder über Google Scholar gesucht. Ebenfalls wurden die Literaturangaben einzelner Publikationen benutzt. Die Datenerfassung erfolgte handschriftlich in einer ausgearbeiteten Vorlage. Diese wurden am gleichen Tag zur farblichen Übersicht in Microsoft Excel 2010 übertragen. Die einfachen deskriptiven Berechnungen wurden ursprünglich mit Excel durchgeführt und mit SPSS parallel bei Erstellung der statistischen Berechnungen kontrolliert. Es wurden folgende statistische Größen berechnet:

- Arithmetischer Mittelwert (Mean)
- Standardabweichung (SD)
- Median
- Anzahl (n)
- Standardfehler (SE) vom Mittelwert (SEM) oder vom Median (SEm)
- 95%-Konfidenzintervall (95%-CI)

Die statistische Auswertung erfolgt eigenständig mit dem IBM SPSS Statistics 20. Alle statistischen Berechnungen wurden vorab auf ein Signifikanzniveau (α) als $p < 0,05$ (5%) festgelegt und in den tabellarischen und schriftlichen Darstellungen mit einem (*) markiert.

In der explorativen Datenanalyse wurde der Datensatz auf Normalverteilung hin berechnet und nach dem Shapiro-Wilk-Test ($W_{\alpha=0,5}$) je nach Gruppengröße (n) interpretiert. Für die im Experiment erhobenen Werte wurden nach ausführlicher Diskussion folgende statistischen Tests durchgeführt und mit Darstellungen visualisiert:

- Enzymwerte während der MP:
 - Test: ANOVA (univariate Varianzanalyse) als nichtparametrische Testverfahren nach Kruskal-Wallis. Bei exakte Signifikanz (anstatt die asymptotischen Signifikanz) wurden die einzelnen Gruppen miteinander im Mann-Whitney-U-Test verglichen.
- Laktatdifferenzen während der MP:
 - Test: ANOVA mit Post-hoc Test nach Games-Howell.
 - Grafische Darstellung: Liniendiagramm mit Mean +/- 95%-CI.
- O₂-Partialdruckdifferenzen während der MP:
 - Test: ANOVA mit Post-hoc Test nach Turkey.
- O₂-Sättigungsdifferenzen während der MP:
 - Test: t-Test
- Laborwerte postoperativ:
 - Test: ANOVA mit Post-hoc Test nach zweiseitigen Dunnett-Test
 - Grafische Darstellung: Balkendiagramm mit Mean +/- 2 SEM
- Laborwerte präfinal:
 - Test: Mann-Whitney-U-Test und Kolmogorov-Smirnov mit exakter Signifikanz (anstatt der asymptotischen).
- Überleben:
 - Test: Differenzen zwischen den überlebten Gruppen mit dem globalen (für das gesamte Follow-Up) log-rank-Test berechnet.
 - Grafische Darstellung: Die Überlebenskurve wurden nach Kaplan-Meier Methode erstellt.

3. Ergebnisse

3.1. Sekundäre Endpunkte

Für die sekundären Endpunkte wurden ausschließlich Messwerte an unterschiedlichen Zeitpunkten herangezogen. Sie dienten damit als Surrogatmarker:

- Zellschäden und Leberwerte
- Lebersyntheseleistung über die Blutgerinnung
- Nierenwerte
- O₂-Versorgung der Leber während der MP

Einige Werte wurden teilweise schon erwähnt [siehe 2.6.] und werden im Folgenden tabellarisch und grafisch ergänzt. Die gemessenen Werte wurden während der MP (5, 30 und 60Min.), postoperativ (nach 5Min.) und präfinal (nach 60d) erhoben.

3.1.1. Leberwerte und Zellschaden während der MP

Es ist davon auszugehen, dass man zwischen einen leichten und schweren Zellschaden bei der Auswertung graduieren muss. Dieses kann ersatzweise durch die Enzymwerte geschehen [Tab. 6-8].

		Mean (U/l)	SD (U/l)	SEM (U/l)	n
H-MPS	ALT	5,8	2,9	1,2	6
	LDH	89,8	48,6	19,8	6
	AST	7,0	3,1	1,3	6
	GLDH	1,0	0	0	6
O-MPS	ALT	8,4	4,3	1,9	5
	LDH	53,2	62,7	28,1	5
	AST	15,6	10,7	4,8	5
	GLDH	1,4	0,5	0,2	5
B-MPS	ALT	5,2	1,8	0,8	5
	LDH	62,2	36,3	16,2	5
	AST	5,6	3,6	1,6	5
	GLDH	1,0	0	0	5

Tab. 6 Vergleich der zytosolischen und mitochondrialen Leberenzyme nach 5Min. MP, keine signifikanten Unterschiede.

		Mean (U/l)	SD (U/l)	SEM (U/l)	n
H-MPS	ALT	7,0	4,7	1,9	6
	LDH	88,0	97,6	39,9	6
	AST	8,3	7,2	2,9	6
	GLDH	1,0	0	0	6
O-MPS	ALT	4,0	0	0	5
	LDH	10,0	0	0	5
	AST	12,8	2,4	1,1	5
	GLDH	1,3	0,4	0,2	5
B-MPS	ALT	4,0	0	0	5
	LDH*	18,2	12,5	5,6	5
	AST*	4,0	0	0	5
	GLDH	1,0	0	0	5

Tab. 7 Vergleich der zytosolischen und mitochondrialen Leberenzyme nach 30Min. MP, p < 0,05 (*) vs. O-MPS.

		Mean (U/l)	SD (U/l)	SEM (U/l)	n
H-MPS	ALT	5,2	1,8	0,7	6
	LDH	83,0	47,2	19,3	6
	AST	7,3	4,0	1,6	6
	GLDH	1,0	0	0	6
O-MPS	ALT	4,0	0	0	5
	LDH	16,8	12,0	5,4	5
	AST	15,2	2,2	1,0	5
	GLDH	3,8	4,1	1,8	5
B-MPS	ALT	5,6	3,6	1,6	5
	LDH	46,4	30,5	13,6	5
	AST*	5,4	1,7	0,7	5
	GLDH	1,0	0	0	5

Tab. 8 Vergleich der zytosolischen und mitochondrialen Leberenzyme nach 60Min. MP, p < 0,05 (*) vs. O-MPS.

Ein messtechnisch verursachter Enzymanstieg direkt zu Beginn der MP ist unwahrscheinlich, weil nach 5Min. etwa schon 25ml (5%) der Lösung perfundiert war. Auffällig ist, dass die GLDH – für einen schweren Zellschaden – während der gesamten drei Messpunkte im Trend nicht angestiegen ist, welches gegen einen schweren messbaren Parenchymschaden spricht. Die restlichen spezifischen und teilweise unspezifischen Leberenzymwerte unterscheiden sich während der MP – mit wenigen Ausnahmen – nicht signifikant voneinander.

Die erhobenen Laktatwerte (Differenz aus posthepatischer „venöser“ und prähepatischer „arterieller“ Messung) spiegeln temperaturabhängig den anaeroben Stoffwechsel wieder [Tab. 9-11].

		Mean (mmol/l)	SD (mmol/l)	SEM (mmol/l)	n
H-MPS	Laktat _a	0,05	0,05	0,02	6
	Laktat _v	0,67	0,19	0,08	6
	Laktat _{av}	0,62	0,21	0,09	6
O-MPS	Laktat _a	2,40	0,51	0,23	5
	Laktat _v	3,22	0,50	0,22	5
	Laktat _{av}	0,82	0,45	0,20	5
B-MPS	Laktat _a	0,04	0,05	0,02	5
	Laktat _v	0,68	0,08	0,04	5
	Laktat _{av}	0,64	0,11	0,05	5

Tab. 9 Vergleich des prähepatischen Laktat_a, posthepatischen Laktat_v und dessen Differenzen Laktat_{av} nach 5Min. MP, keine signifikanten Unterschiede.

		Mean (mmol/l)	SD (mmol/l)	SEM (mmol/l)	n
H-MPS	Laktat _a	0,15	0,10	0,04	6
	Laktat _v	0,20	0,06	0,03	6
	Laktat _{av}	0,05	0,08	0,04	6
O-MPS	Laktat _a	2,02	0,20	0,09	5
	Laktat _v	2,78	0,57	0,25	5
	Laktat _{av}	0,76	0,39	0,17	5
B-MPS	Laktat _a	0	0	0	5
	Laktat _v	0,12	0,04	0,02	5
	Laktat _{av} *	k.A.	k.A.	k.A.	5

Tab. 10 Vergleich des prähepatischen Laktat_a, posthepatischen Laktat_v und dessen Differenzen Laktat_{av} nach 30Min. MP, $p < 0,05$ (*) vs. O-MPS und H-MPS.

		Mean (mmol/l)	SD (mmol/l)	SEM (mmol/l)	n
H-MPS	Laktat _a	0,22	0,04	0,02	6
	Laktat _v	0,23	0,08	0,03	6
	Laktat _{av}	0,01	0,08	0,03	6
O-MPS	Laktat _a	2,42	0,29	0,13	5
	Laktat _v	3,06	0,69	0,31	5
	Laktat _{av}	0,64	0,48	0,21	5
B-MPS	Laktat _a	0,16	0,09	0,04	5
	Laktat _v	0,18	0,04	0,02	5
	Laktat _{av}	0,02	0,04	0,02	5

Tab. 11 Vergleich des prähepatischen Laktat_a, posthepatischen Laktat_v und dessen Differenzen Laktat_{av} nach 60Min. MP, keine signifikanten Unterschiede.

Die Laktatmessungen sind in der O-MPS bei 21°C höher als in den übrigen beiden Gruppen bei 4°C Perfusion [Abb. 26].

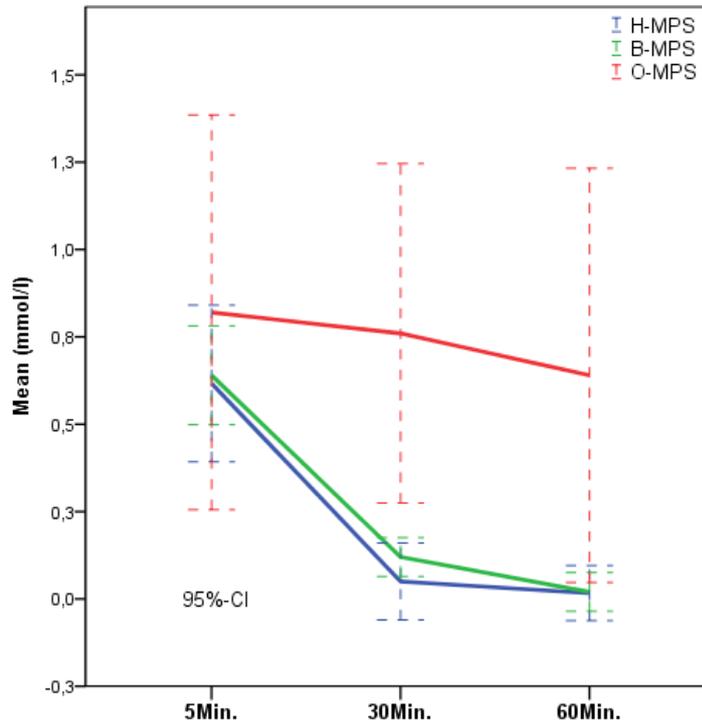


Abb. 26
Vergleich der
Laktatspiegel nach 5, 30
und 60Min. MP

Nach 5Min. gibt es keine signifikanten Unterschiede, diese bilden sich erst nach 30Min. in der Laktatdifferenz aus. Nach 60Min. unterscheidet sich die Laktatdifferenz mit 0,2mmol/l in der H-MPS und B-MPS, aber nicht mehr signifikant zu O-MPS mit 0,64mmol/l.

- 5Min. MP (O-MPS vs. H-MPS): $p = 0,651$
- 5Min. MP (O-MPS vs. B-MPS): $p = 0,689$
- 5Min. MP (H-MPS vs. B-MPS): $p = 0,971$
- 30Min. MP (O-MPS vs. H-MPS): $p = \mathbf{0,030}$
- 30Min. MP (O-MPS vs. B-MPS): $p = \mathbf{0,045}$
- 30Min. MP (H-MPS vs. B-MPS): $p = 0,355$
- 60Min. MP (O-MPS vs. H-MPS): $p = 0,089$
- 60Min. MP (O-MPS vs. B-MPS): $p = 0,091$
- 60Min. MP (H-MPS vs. B-MPS): $p = 0,995$

Der pH-Wert der einzelnen MPS sank bei jeder Lösung um 0,3-0,4 Einheiten im Vergleich zum Ausgangswert [Tab. 5].

3.1.2. Sauerstoffversorgung während der MP

Wie erwähnt wird die Temperatur des Perfusats während der MP nur stichprobenartig kontrolliert. Die Temperaturkontrolle erfolgte im Thermostat. Die Oxygenierung des Perfusats während der MP wurde dagegen in festgelegten Intervallen protokolliert. Dabei wurden in allen drei Gruppen (H-MPS, O-MPS und B-MPS) prähepatische, posthepatische Partialdrücke (P_{O_2}) und deren Differenzen nach 5, 30 und 60Min. notiert [Tab. 12-14].

		Mean (mmHg)	SD (mmHg)	SEM (mmHg)	n
H-MPS	P_{aO_2}	604	88	36	6
	P_{vO_2}	273	70	29	6
	P_{avO_2}	331	47	19	6
O-MPS	P_{aO_2}	532	98	44	5
	P_{vO_2}	116	52	23	5
	P_{avO_2}	416	115	51	5
B-MPS	P_{aO_2}	792	97	43	5
	P_{vO_2}	299	37	17	5
	$P_{avO_2}^*$	494	83	37	5

Tab. 12 Vergleich der prähepatischen Partialdrücke (P_a), posthepatische Partialdrücke (P_v) und deren Differenzen (P_{av}) nach 5Min. MP, $p < 0,05$ (*) vs. H-MPS.

		Mean (mmHg)	SD (mmHg)	SEM (mmHg)	n
H-MPS	P_{aO_2}	641	92	38	6
	P_{vO_2}	326	61	25	6
	P_{avO_2}	315	50	21	6
O-MPS	P_{aO_2}	507	36	16	5
	P_{vO_2}	162	86	39	5
	P_{avO_2}	345	115	51	5
B-MPS	P_{aO_2}	590	52	23	5
	P_{vO_2}	280	26	12	5
	P_{avO_2}	310	30	14	5

Tab. 13 Vergleich der prähepatischen Partialdrücke (P_a), posthepatische Partialdrücke (P_v) und deren Differenzen (P_{av}) nach 30Min. MP, keine signifikanten Unterschiede.

		Mean (mmHg)	SD (mmHg)	SEM (mmHg)	n
H-MPS	P_{aO_2}	622	76	31	6
	P_{vO_2}	379	58	24	6
	P_{avO_2}	242	45	18	6
O-MPS	P_{aO_2}	547	40	18	5
	P_{vO_2}	165	82	37	5
	$P_{avO_2}^*$	382	107	48	5
B-MPS	P_{aO_2}	637	75	34	5
	P_{vO_2}	289	38	17	5
	P_{avO_2}	347	44	20	5

Tab. 14 Vergleich der prähepatischen Partialdrücke (P_a), posthepatische Partialdrücke (P_v) und deren Differenzen (P_{av}) nach 60Min. MP, $p < 0,05$ (*) vs. H-MPS.

Die PO_2 -Differenzen ($P_{av}O_2$) zwischen den beiden experimentellen Gruppen O-MPS und B-MPS waren trotz Temperaturdifferenz nicht signifikant verschieden. Die größte physikalische Ausschöpfung des O_2 nach 5Min. war bei der B-MPS zu beobachten, welches sich auch als signifikantes Ergebnis zu der H-MPS mit der geringsten Ausschöpfung zeigte. Nach 30Min. konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Erst wieder nach 60Min. wurde zwischen der höchsten Ausschöpfung diesmal in der O-MPS im Vergleich zur geringsten Ausschöpfung wieder in der H-MPS nachgewiesen.

- 5Min. MP (O-MPS vs. H-MPS): $p = 0,252$
- 5Min. MP (O-MPS vs. B-MPS): $p = 0,344$
- 5Min. MP (H-MPS vs. B-MPS): $p = \mathbf{0,018}$
- 30Min. MP (O-MPS vs. H-MPS): $p = 0,783$
- 30Min. MP (O-MPS vs. B-MPS): $p = 0,733$
- 30Min. MP (H-MPS vs. B-MPS): $p = 0,922$
- 60Min. MP (O-MPS vs. H-MPS): $p = \mathbf{0,014}$
- 60Min. MP (O-MPS vs. B-MPS): $p = 0,713$
- 60Min. MP (H-MPS vs. B-MPS): $p = 0,066$

In der O-MPS wurden zusätzlich die prähepatische, posthepatische O_2 -Sättigung (SO_2) und deren Differenz des Oxyglobin® gemessen [Tab. 15].

Die SO_2 -Differenz ($S_{av}O_2$) unterscheidet sich zwischen allen drei Messpunkten signifikant. Sie erstreckt sich zu Beginn auf 19% (SD +/- 6,5) bis nach 60Min. auf 15% (SD +/- 5,7), was sich nicht durch erhöhte PO_2 kompensiert [Tab. 14]:

- 5Min. MP: $p = \mathbf{0,003}$
- 30Min. MP: $p = \mathbf{0,005}$
- 60Min. MP: $p = \mathbf{0,004}$

		Mean (%)	SD (%)	SEM (%)	n
5 Min.	S _a O ₂	89	1,6	0,7	5
	S _v O ₂	70	6,7	3,0	5
	S _{av} O ₂ *	19	6,5	2,9	5
30 Min.	S _a O ₂	88	1,9	0,8	5
	S _v O ₂	72	6,2	2,8	5
	S _{av} O ₂ *	18	5,0	2,5	5
60 Min.	S _a O ₂	88	1,7	0,8	5
	S _v O ₂	72	5,5	2,5	4
	S _{av} O ₂ *	15	5,7	2,5	5

Tab. 15 Vergleich der prähepatischen Sättigung (S_a), posthepatische Sättigung (S_v) und deren Differenzen (S_{av}) nach 5, 30 und 60Min, p < 0,05 (*) untereinander.

3.1.3. Ischämie- und Reperfusionsschaden (IRI)

Im postoperativen Verlauf zeigen sich zwar unterschiedliche Laborkonstellationen zwischen den Gruppen, insbesondere bei der LDH [Abb. 27], allerdings sind diese nicht signifikant [Tab. 16, gekennzeichnet].

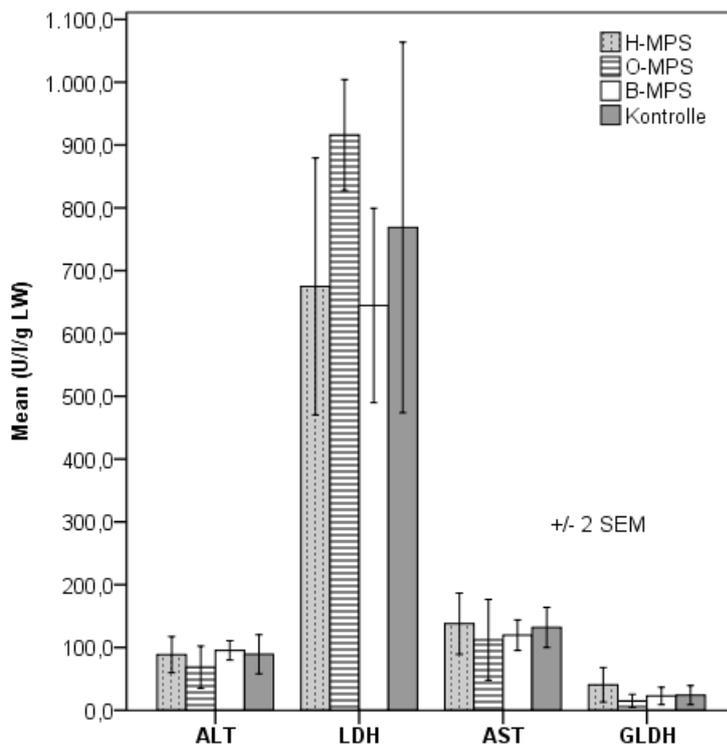


Abb. 27

Darstellung der postoperativen Enzymwerte +/- 2 SEM zur Beurteilung des Ischämie- und Reperfusionsschaden (IRI)

		Mean (U/l)	SD (U/l)	SEM (U/l)	n
H-MPS	ALT	89	32	14	5
	LDH	675	229	102	5
	AST	138	54	24	5
	GLDH	41	31	14	5
O-MPS	ALT	69	29	17	3
	LDH	916	63	44	2
	AST	112	56	32	3
	GLDH	15	12	5	5
B-MPS	ALT	95	17	8	5
	LDH	645	173	77	5
	AST	119	27	12	5
	GLDH	23	16	7	5
Kontrolle	ALT	89	35	15	5
	LDH	769	330	147	5
	AST	132	36	16	5
	GLDH	24	17	8	5

Tab. 16 Vergleich der zytosolischen und mitochondrialen Leberenzyme postoperativ, keine signifikanten Unterschiede trotz numerischer Unterschiede (gekennzeichnet) bei der LDH.

Nach der univariaten Analyse ergeben sich folgende Werte, welche sich folgerichtig auch im Mehrfachvergleich mit Sicht auf die Kontrollgruppe im Post-hoc Test nicht signifikant unterscheiden:

- AST: $p = 0,82$
- ALT: $p = 0,66$
- LDH: $p = 0,56$
- GLDH: $p = 0,27$

3.1.4. Präfinale Verlaufswerte nach sechzig Tagen Follow-Up

Die relevanten Laborparameter wurden präfinal nach sechzig Tagen Follow-Up auf das Überleben den Ratten entnommen [Tab. 17].

		Mean (U/l)	SD (U/l)	SEM (U/l)	n
B-MPS	ALT	54	12	9	2
	LDH	391	86	61	2
	AST	76	3	2	2
	GLDH	7	1	1	2
	t-Bili	0,1	0,1	0,1	2
	Krea	0,38	0,04	0,03	2
	Hast	38	4	3	2
	INR	1,46	0	0	1
	aPTT	20	0	0	1
Kontrolle	ALT	72	55	28	4
	LDH	172	39	20	4
	AST	243	368	184	4
	GLDH	29	50	25	4
	t-Bilirubin	1,55	2,90	1,45	4
	Kreatinin	0,24	0,06	0,03	4
	Harnstoff	41	5	2	4
	INR	1,45	0,07	0,03	4
	aPTT	21,33	1,15	0,67	3

Tab. 17 Vergleich der präfinalen Verlaufswerte der überlebten Tiere in der Kontrolle und B-MPS nach 60d Follow-up, keine signifikanten Unterschiede.

Bei einer insgesamt geringen Anzahl an überlebten Tieren in den beiden Gruppen erreichten keine klinischen Laborkonstellationen das Signifikanzniveau:

- AST: $p = 0,533$ bzw. $0,400$
- ALT: $p = 0,533$ bzw. $0,933$
- LDH: $p = 0,133$ bzw. $0,133$
- GLDH: $p = 0,533$ bzw. $0,400$
- t-Bilirubin: $p = 0,800$ bzw. $1,000$
- Kreatinin: $p = 0,133$ bzw. $0,133$
- Harnstoff: $p = 0,533$ bzw. $0,933$
- INR: $p = 0,800$ bzw. k.A.
- aPTT: $p = 0,500$ bzw. k.A.

Abschließend fällt es auch hier schwer eine Aussage zu treffen, bei den wenig überlebten Tieren, die das Follow-up in der Gruppe der B-MPS erreicht haben.

3.2. Primärer Endpunkt

Es gab einen vorher festgelegten Langzeitüberlebenszeitpunkt der Tiere von 60 Tagen bzw. bis zum iatrogene Tod des Tieres [**Abb. 28**].

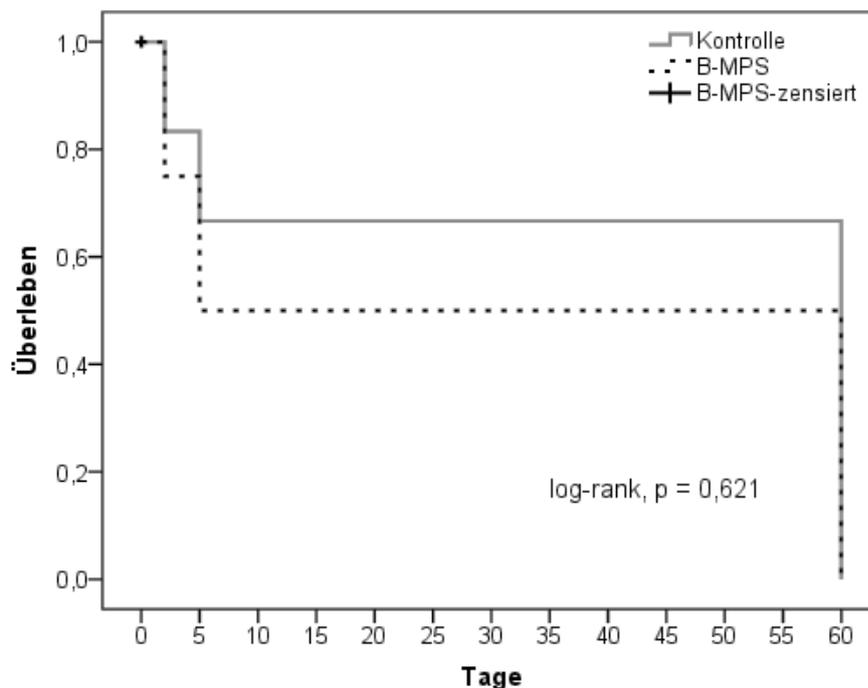


Abb. 28

Überlebenskurven nach Kaplan-Meier zwischen der Kontrollgruppe und B-MPS. O-MPS und H-MPS zeigten kein Überleben (= 0d).

Die Daten zwingen uns, dass die H-MPS und die O-MPS aus der Berechnung der Überlebensfunktion ausgeschlossen werden muss. In beiden genannten Gruppen betrug die Überlebenszeit (in Tagen) null. Somit war keine statistische Berechnung möglich. In der Kontrollgruppe wurde kein und in der B-MPS nur ein Tier als zensiert gekennzeichnet, welche am nächsten postoperativen Tag verstorben war. Jedes Tier, welches $\geq 2d$ überlebte, wurde als überlebt gewertet und wurde in der Berechnung berücksichtigt. Somit standen zur Auswertung des primären Endpunktes unserer experimentellen Studie nur zwei Versuchsgruppen zur Verfügung [Tab. 18-19]: Die Kontrolle und die B-MPS.

	n (Gesamt)	n (Ereignis)	Zensiert	
			n	Prozent
Kontrolle	6	6	0	0%
B-MPS	5	4	1	20,0%
Gesamt	11	10	1	9,1%

Tab. 18 Einschluss der Gruppen in die Analyse der Überlebensfunktion

	Mean (d)				Median (d)			
		SEM	95%-CI			SEm	95%-CI	
			Untere Grenze	Obere Grenze			Untere Grenze	Obere Grenze
Kontrolle	41,2	11,9	17,8	64,5	60	0	-	-
B-MPS	31,8	16,3	0	63,7	5	19,3	0	42,9
Gesamt	37,4	9,2	19,3	55,5	60	0	-	-

Tab. 19 Deskriptive Analyse der Überlebensfunktion nach Kaplan und Meier

In der Kaplan-Meier Kurve ist zwischen der Kontrolle und der B-MPS kein signifikanter Überlebensvorteil nach dem log-Rank-Test ($p = 0,621$) auszumachen, denn die Überlebenswahrscheinlichkeit betrug bei der Kontrolle 67% und bei der B-MPS 50% [Abb. 28].

4. Diskussion

4.1. Testgüte der Ergebnisse

4.1.1. Darstellung zur Maschinenperfusion

Die MP wurde bei jeder der drei untersuchten Gruppen immer mit der gleichen Geräten und Einstellungen (Perfusionsrate, Temperatur, Druck) durchgeführt [siehe 2.5.]. Die Perfusionsrate und die Temperatur an den Geräten wurden voreingestellt und nicht verändert. Die Temperatur wurde stichprobenartig kontrolliert. Um Druckspitzen im venösen Gefäßsystem der Leber zu erkennen und eingreifen zu können, wurden diese an der Heidelberger Verlängerung nach voriger Eichung (in cmWS) gemessen. Zwei mögliche Komplikationen mit einem massiven Anstieg der Drücke sind denkbar:

(1) Verdrehung der PV beim Einlegen zu Beginn der MP oder (2) eine Luftembolie. Eine Luftembolie wurde nie festgestellt. Die Verdrehung der PV kam in der ersten Min. durchaus vereinzelt vor, wurde aber sofort behoben. Die Drücke waren zu den Messpunkten am Messort [**Abb. 5 (+)**] vergleichbar niedrig mit einem tiefsten Wert des portalvenösen Druckes (PVD) der B-MPS und höchsten Werten der H-MPS [**Tab. 20**, gekennzeichnet und **Abb. 29**].

	Mean (cmWS) bei 5Min.	Mean (cmWS) bei 30Min.	Mean (cmWS) bei 60Min.	n
H-MPS	5	5	4	6
O-MPS	3	2	2	5
B-MPS	1	1	2	5

Tab. 20 Perfusionsdrücke (gerundet) an der V. portae (= PVD) mit einer klaren Tendenz zu niedrigen Drück in der B-MPS (gekennzeichnet).

Die Aktivität von Enzymen ist nicht nur von der Temperatur, sondern auch vom pH-Wert abhängig. Durchaus auffällig waren die deutlichen pH-Wert Senkungen um 0,3-0,4 Einheiten in jeder MPS. Das bedeutete für die Leber in der H-MPS einen pH-Wert von etwa 6,8. Die Senkung lässt sich durch den Anstieg der sauren Metabolite (Laktat) erklären bzw. deren fehlende Pufferung. Wobei gerade der Laktatanstieg in der H-MPS nur sehr gering war. Die Tendenz in den publizierten Versuchen mit neueren Perfusaten geht ganz klar in den alkalischen Bereich und basiert auf Daten der frühen 80er Jahre [119].

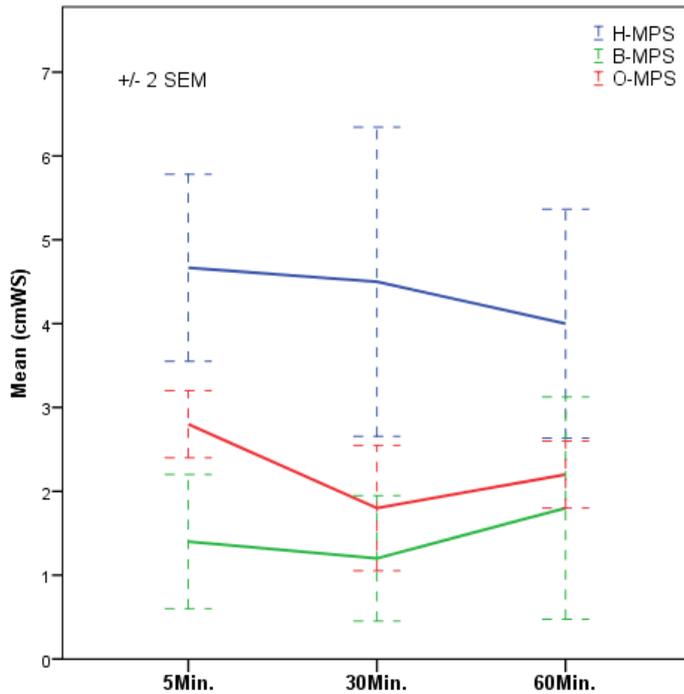


Abb. 29

Darstellung der portalvenösen Drücke +/- 2 SEM während der MP bei 5, 30 und 60Min.

4.1.2. Darstellung zur Operation

Eine Arbeitsgruppe aus Heidelberg konnte 2005 zeigen, dass die Überlebenskurven der Tiere die 80% überstiegen, wenn der Operateur mehr als 100-mal eine LTx durchführte. Ebenfalls sank damit die Dauer der anhepatischen Zeit auf 20-25 Min. [Abb. 30]. Hori aus Florida konnte allerdings zeigen, dass diese Zeit nicht ausreicht. Es gab keinen signifikanten Überlebensvorteil zwischen einer anhepatischen Zeit von < 15Min. vs. 15-20Min., allerdings eine deutliche Signifikanz bei > 20Min. [Abb. 31].

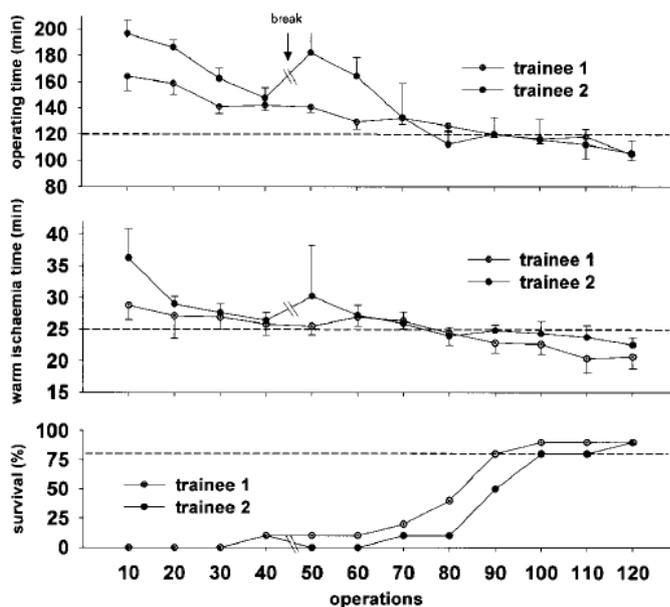
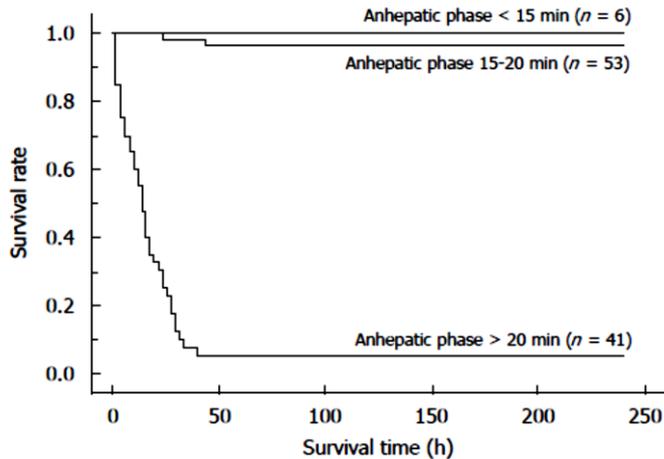


Abb. 30

Lernkurve für die OP-Zeit, anhepatische Zeit und das Überleben [120]

**Abb. 31**

Lernkurve der anhepatische Zeit [121]
 (mit freundlichen Genehmigung von Hori,
 Jacksonville, USA)

Zwischen Juni und August 2008 wurden 17 Organexplantationen zum Einstieg durchgeführt. Es folgten bis April 2009 etwa 57 LTx ohne Messung der anhepatischen Zeit. Zwischen April und September 2009 sind zusätzlich 17 LTx mit einer durchschnittlichen anhepatischen Zeit von etwa 18Min. durchgeführt worden. Damit waren die Voraussetzungen mit einer anhepatischen Zeit < 20Min. für die Versuche gesetzt. Die Tiere überlebten in der Übungsphase bis zu 8d und wurden dann getötet. Damit sind die Frühkomplikationen nach der LTx abgedeckt. Nach also insgesamt 17 alleinigen Explantationen und 74 LTx begannen somit Anfang September 2009 die Versuche und wurden Ende November 2009 abgeschlossen. Die Reihenfolge der Operationen war zufällig. Die Erfassung der anhepatischen Zeit erfolgte mit einer Stoppuhr und wurde auf eine 1/4Min. (= 15s) gerundet. Sie betrug minimal 15:45Min. +/- 15s in der O-MPS bzw. 16:42Min. +/- 38s in der Kontrollgruppe. Die gesamte OP-Dauer der LTx wurde auf 1Min. genau erfasst. Sie betrug durchschnittlich von Schnitt bis Naht in der Kontrollgruppe 2:00h +/- 2Min. bzw. in der H-MPS bis 2:22h +/- 6Min. [Tab. 21]. Zum Einfluss der Zeiten auf das Outcome der Tiere ist im größeren Maße auf die anhepatische Zeit als auf die gesamte OP-Dauer zu achten.

			Mean (h:mm:ss)	SD (h:mm:ss)	SEM (h:mm:ss)	n	
OP-Zeiten beim Empfänger	Anhepatische Zeit	1	H-MPS	0:17:18	0:01:40	0:00:41	6
		2	O-MPS	0:15:45	0:00:33	0:00:15	5
		3	Kontrolle	0:16:42	0:01:33	0:00:38	6
		4	B-MPS	0:16:42	0:01:13	0:00:32	5
	Gesamt OP-Dauer	1	H-MPS	2:22:00	0:17:00	0:06:00	6
		2	O-MPS	2:03:00	0:07:00	0:03:00	5
		3	Kontrolle	2:00:00	0:06:00	0:02:00	6
		4	B-MPS	2:05:00	0:03:00	0:01:00	5

Tab. 21 Operationsreihfolge und Auswertung der verschiedenen OP-Zeiten zur LTx

Mit den Körpergewichtsangaben des Spenders und Empfänger wurde die anatomische Kompatibilität kontrolliert. Das Lebergewicht wurde außerdem für die postoperativen Laborwerte benötigt. Die Gewichtszunahme zum Ausgangsgewicht der überlebenden Tiere in der Kontrolle vs. B-MPS betrug 106g +/- 17,29 vs. 82g +/- 6,55 (bzw. 44% vs. 28%). Die B-MPS war sowohl bei den Spendern als auch bei den Empfängern deutlich schwerer als die MP-Vergleichsgruppen, was allerdings eher die Operation erschwert als das Überleben verlängert wie an der Kontrolle mit dem geringsten durchschnittlichen Körpergewicht zu ersehen ist [**Tab. 22**].

		Mean (g)	SD (g)	SEM (g)	n	
Spender	Körpergewicht	H-MPS	241	09,66	03,94	6
		O-MPS	254	18,59	08,31	5
		Kontrolle	234	29,96	12,23	6
		B-MPS	291	15,05	06,73	5
	Lebergewicht	H-MPS	12,04	0,48	0,20	6
		O-MPS	12,72	0,93	0,42	5
		Kontrolle	11,68	1,50	0,61	6
		B-MPS	14,55	0,75	0,34	5
Empfänger	Körpergewicht	H-MPS [#]	254	23,70	09,70	6
		O-MPS [#]	241	15,80	07,10	5
		Kontrolle [#]	238	29,20	11,90	6
		B-MPS [#]	286	11,40	05,10	5
	Körpergewicht	Kontrolle ^{##}	341	38,36	19,18	4
		B-MPS ^{##}	374	06,22	04,40	2
		Kontrolle ^{###}	106	34,58	17,29	4
		B-MPS ^{###}	082	09,26	06,55	2

Tab. 22 Angaben des Spenders: Körpergewicht, Lebergewicht. Angaben des Empfängers: Körpergewicht präoperativ ([#]), präfinal (^{##}), die Differenz (^{###}).

4.2. Wie sind die Ergebnisse zu werten?

Die zentrale Frage dieser Arbeit war, ob die 1h-MP mit einer Perfusionslösung gegenüber einer SCS mit einer Konservierungslösung für die Spenderleber nach 1h Warmischämie Vorteile bringt. Eine Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2010 zeigt deutlich die Vorzüge der MP gegenüber der SCS, insbesondere bei marginalen Spenderlebern [110].

Hat die Streptokinase zur Präkonditionierung am Spenderorgan einen Vorteil?

Minor et al. kam 2001 zu dem Resultat, dass sich bei einer Perfusion mit 60cmH₂O Wassersäule die endotheliale Struktur der Lebersinusoide im MRT verbessert [116]. Nichtsdestotrotz ist mit oder ohne diese enzymatische Spaltung durch die Streptokinase ein erheblicher Bias bezüglich der ermittelten postoperativen Enzymwerte zu erwarten. Denn die lange warme Ischämiezeit von 60Min. erhöht die Anzahl der Gerinnungsthromben in der Leber erheblich. Zusätzlich ist der Effekt der Streptokinase auf die Gerinnungsthromben, die aus Erythrozyten und wenigen Thrombozyten bestehen, schwierig abzuschätzen. Aber gerade diese können bei Zerfall LDH und AST freisetzen und die Werte falsch positiv erhöhen. Wenn die erhöhten Werte in allen drei Messungen vorkommen, scheint diese Hypothese sogar sehr wahrscheinlich. Dies lässt sich aber nicht ohne weiteres aus unseren geringen Fallzahlen ableiten. Nach den Messwerten während der MP nach 30Min., ist diese These sogar abzulehnen. Es zeigten sich fast zweifach erhöhte LDH bei der B-MPS vs. O-MPS und konträr dazu nur 1/3 erhöhte AST bei der B-MPS, beides signifikante Ergebnisse [Tab. 7]. Neuste experimentelle Daten am Schwein zeigen sogar, dass einem eigens entwickelten Protokoll, welches Streptokinase enthält, zu einer Verringerung von Genexpressionen führt, die bei dem IRI eine entscheidende Rolle spielt [122].

Schadet die künstliche MP der Leber und führt diese zur Apoptose der Zellen? Wahrscheinlich nicht. Dutkowski et al. stellte sich entgegen einiger früherer Arbeiten dieser Frage und konnte diese mit einem klarem nein beantworten. Er analysierte DNA-Fragmente und Caspase-Aktivität um das Ausmaß der Apoptose abzuschätzen. Es gab keine relevanten Unterschiede zwischen SCS alleine und SCS+MPS. Allerdings gab es keine warme Ischämiezeit des Organs und die Zeit der SCS betrug 10h und die der MPS 3h [123].

Ist die Entscheidung der Perfusionsrate oder -volumina zu überdenken?

Zunächst sind mit unserem Aufbau nach 1h nur etwa 50% (300ml) der Perfusionslösung bei 0,5ml/Min./g Lebergewicht über die PV pulsatil durch die Leber gepumpt worden. Eine Erhöhung der Perfusionsrate ist bei druckbedingtem Schaden an der Leber nicht zu empfehlen. Technisch bedingt, war durch das hohe Volumen immer gewährleistet, dass die Leber mit frischem Perfusat versorgt wurde. Ein Luxus, der bei einem Großtier oder am Menschen zwar realisierbar ist, aber auch sehr aufwendig wäre und für die schwierige Minimalisierung des Versuchsaufbaus spricht. Somit waren die Perfusionsvolumina und Perfusionsraten vergleichbar mit anderen Arbeiten von 0,44ml/Min./g [124] bzw. 0,2ml/Min./g Lebergewicht [125].

Ist die Entscheidung der Perfusionsgefäße oder -art zu überdenken?

Alternativ ist der Weg über die empfindliche und weniger erfolgreiche Arterie [126] oder einer arteriell-venöse kombinierten Perfusion möglich. Eine gute Übersicht über die Problematik bei kombinierten Flüssen gibt Monbaliu et al. [127]. International hat sich die venöse Perfusion über die PV der Leber etabliert [108,124,126,128]. Abhängig welches Gefäß für die Perfusion gewählt wurde, strebt man physiologische Bedingungen an. Somit sollte die Arterie pulsatil mit höheren und die Vene non-pulsatil mit weniger Druck perfundiert werden. Entgegen diesem Konzept gibt es Daten zur Verringerung des oxidativen Stresses und der besseren Regeneration von Energiespeichern bei pulsatilem Fluss der PV [124], wie wir es benutzen.

Welchen Einfluss hatte die Temperatur während der MP?

Olschewski et al. berichtete 2003, dass die H-MPS der B-MPS in der 24h-HMP (4°C) - mit Ausnahme der erhöhten GLDH - entsprach [129]. Ähnliches wurde in unseren Werten der Leberenzyme während der MP ohne eindeutige Unterschiede außer nach 30 und 60Min. in der AST beobachtet [**Tab. 6-8**]. Leider übertrug sich die Gleichwertigkeit in den Surrogatmarkern nicht auf das Überleben der Tiere in der H-MPS im Vergleich zur B-MPS in der hypothermen MP [**Abb. 28**]. Erste klinische Studien in Phase-I zeigen, dass eine 4 bis 7h-HMP (4-8°C) im Vergleich zur SCS eine verringerte Zytokinexpression (TNF- α , IL-8 und ICAM-1) am Menschen zur Folge hat [130]. Die sNMP führte nur in Einzelfällen zu signifikanten erhöhten Enzymwerten im Perfusat zwischen B-MPS und O-MPS [**Tab. 7-8**]. Vairetti et al. konnte in seinem Modell nach 6h-MP mit modifizierten Krebs-Henseleit-Puffer ähnliches beobachten. Er verglich die SCS (4°C) vs. HMP (4°C und 8°C) vs. sNMP (20°C) im normalen Modell vs. dem Fettleber-Modell. Alle Gruppen waren keiner warmen Ischämiezeit ausgesetzt. Alle

nachfolgenden Äußerungen beziehen auf das normale Modell (Daten des Fettleber-Modell sind nicht erwähnt) mit Vergleich der MP vs. SCS: Es gab bei der LDH und AST unabhängig bei welcher Temperatur keine erhöhten Werte am Ende der 6h-MP. Zusätzlich wurden die ATP/ADP-Ratio und die Caspase-Aktivität gemessen. Die Energiereserven erhöhten sich mit der Temperatur der MP und erreichten Signifikanz bei sNMP (20°C) vs. SCS (4°C). Die Apoptose war im Vergleich zur Kontrollgruppe sowohl in der SCS als auch in den übrigen MP-Gruppen erhöht [131]. Eine andere Arbeitsgruppe von der gleichen University of Pavia verglich die sNMP (20°C) mit UW®-Lösung vs. SCS (4°C) bei NHBD mit 30Min. warmer Ischämiezeit an Ratten. Als Kontrollgruppe dienten HBD mit SCS (4°C). Sie berichten zwischen den beiden Gruppen der NHBD über signifikante Differenzen mit Schutz eines IRI durch Verbesserung der Galle-Produktion, Verringerung der Leberenzymen und des Leberzellschadens und Erhöhung der ATP-Reserven und Glutathionspiegel [132]. Ähnliche Ergebnisse konnten Olschewski et al. 2010 an marginalen Rattenlebern nach 60Min. warmer Ischämiezeit und 6h-MP nachweisen. Es verbesserte sich signifikant die Galle-Produktion in der sNMP (21°C) mit Lifor® mit ähnlichen Endothel- und Leberzellschaden gegenüber MP (4°C und 12°C) und SCS (4°C). Lifor® besteht aus nutritiven Bestandteilen mit einem nichttierischen Protein als Hb-freier O₂-Träger. Es wurden keine harten Endpunkte wie beispielsweise das Überleben untersucht. In der sNMP konnte nach 4h und 6h ein signifikanter Laktatanstieg gemessen werden [133]. Die Laktatwerte in der O-MPS mit 17°C Temperaturdifferenz waren nur nach 30Min. signifikant durch eine mögliche O₂-Schuld zur B-MPS erhöht [Tab. 10]. Die O-MPS mit Oxyglobin® als HBOC konnte nach kürzer 1h-sNMP nicht überzeugen. Es überlebte kein Tier. Um eine Diskussionsbasis zur hypothermen und subnormothermen Form der MP zu haben, sei die normotherme Form der MP (NMP) als mögliche Alternative bei marginalen Spenderleber ebenfalls angeführt. Bei der NMP können enorme Organschäden entstehen wie Hellinger et al 1997 beschrieb. Die Schweinelebern wurden einer 1h oder 3h warmer Ischämiezeit ausgesetzt mit nachfolgender SCS oder NMP. In beiden Konservierungsverfahren wurde HTK verwendet. Die Autoren empfahlen ausschließlich die SCS in einem Intervall von bis zu 3h Ischämie bei NHBD [134]. Eine frühere Arbeitsgruppe aus unserer Klinik (Campus Virchow-Klinikum) konnte mit ihrem Konzept der normothermen extracorporalen Leberperfusion (NELP) zeigen, dass die NMP der SCS überlegen war. Die NELP wurde mit Vollblut und Elektrolytlösung über Arterie und Vene kombiniert und die SCS mit UW®-Lösung

durchgeführt. Nach 1h warmer Ischämiezeit überlebten keine Tiere in der 4h-SCS im Gegensatz durchschnittlich 7d Überlebenszeit in der 4h-NELP. Keine Überlebensunterschiede gab es zwischen den beiden Gruppen, wenn sie keiner Ischämiezeit ausgesetzt waren [135].

Eine Schlussfolgerung nach unseren Ergebnissen ist, dass bei einem starken Leberzellschaden nach 1h Warmischämie die Dauer der MP verlängert oder die Temperatur der MP zur ausreichenden Regeneration erhöht werden muss.

Ist die Entscheidung zur Dauer der MP damit zu überdenken?

Ja, wenn man sich die Kontrolle in SCS bei 4°C im Vergleich zur O-MPS bei 21°C oder H-MPS bei 4°C in Erinnerung holt. Es stehen 6/6 überlebten Tieren in der Kontrolle null überlebten Tieren in der O-MPS und H-MPS gegenüber. Aus vorhergehenden Experimenten wissen wir jedoch, dass die 6h-MP mit O-MPS zu signifikanten besseren Ergebnissen als die SCS mit HTK führt [136].

Nein, wenn man sich die Kontrolle im Vergleich zur B-MPS bei 4°C in Erinnerung holt. Dabei stehen 6/6 überlebten Tiere in der Kontrolle 4/6 überlebten Tieren in der B-MPS gegenüber. Allerdings haben 4/6 das Follow-up in der Kontrolle und nur 2/5 in der B-MPS erreicht. Der Unterschied reichte nicht für einen signifikanten Überlebensvorteil in der Kontrolle gegenüber der B-MPS [**Abb. 28**]. Eine Arbeit aus dem *Annals of Surgery* konnte am klinisch relevanten Tier, dem Schwein nach 1h Warmischämie und 7h-SCS bzw. 6h-SCS + 1h-HMP im HOPE-Modell (jeweils n = 6) zeigen, dass eine 6h-SCS + 1h-HMP sehr wohl zu einer Regeneration der Leber führen kann. Der Unterschied zwischen den ATP- und Glutathion-Reserven war signifikant, der zwischen den Thrombozyten nicht. Ebenso konnte ein hochsignifikanter ($p < 0,001$) Überlebensvorteil zu Gunsten der Gruppe im HOPE-Modell (n = 5) gezeigt werden [137]. Die verwendete Perfusionslösung – ursprünglich für die SCS des Herzens entwickelt – war die Celsior-Lösung [138].

Mit unseren Befunden ist die MP trotz konträrer Ergebnisse natürlich nicht abzulehnen, wie gerade im anderen Tiermodell eindrücklich dargestellt. Trotzdem ist immer Vorsicht in der Interpretation bei Verwendung unterschiedlicher Tiermodelle geboten. Zu einer ähnlichen Erkenntnis kommt auch Prof. J. Pirenne aus Leuven (Belgien), der es so ausdrückt: „...to me this represents a major breakthrough“. Unerwähnt sollte aber nicht das fehlende Langzeit-Überleben der Tiere dieser Arbeit aus Zürich bleiben. Alle Tieren wurden nach 18h getötet [137].

Welchen Erfolg hat die O₂-Gabe während der MP? Es ist seit längerem bekannt, dass die Oxygenierung eines marginalen Spenderorgans zu einer besseren Zellintegrität und Regeneration der Energiereserven führt [139,140]. Der O₂-Gehalt eines Mediums ist von seinem physikalisch gelösten und chemisch gebundenen O₂ abhängig. Die physikalisch gelöste Gasmenge O₂ ist wiederum proportional vom Löslichkeitskoeffizienten (α_{O_2}) und dem arteriellen oder venösen PO₂ beeinflusst. Der Löslichkeitskoeffizienten ist im Vergleich zum Kohlendioxid zwanzigmal geringer, daher muss der Partialdruck des Perfusats ausreichend hoch sein, um eine ausreichende Gasmenge ohne HBOC zu gewährleisten. Zur Bereitstellung von O₂ während der MP wurden physikalische und chemische Methoden benutzt.

Ist die Entscheidung der physikalischen O₂-Versorgung zu überdenken?

Grundsätzlich gibt es dafür keine Anzeichen. Der PO₂ erscheint bei 100% O₂-Gabe im Vergleich zu den humanen Richtwerten sehr hoch [Tab. 12-14], aber deckt sich mit anderen Arbeiten. Lürer et al. konnte in-vitro zeigen, dass bei 100% O₂-Zufuhr (= 600-700mmHg) die LDH und ALT um 70% bzw. um 40% bei 20% O₂-Zufuhr (Atemluft mit 200-250mmHg) nach Reperfusion verglichen mit keiner Oxygenierung (50-100mmHg) reduzierten. Es gab keine Assoziation oder Korrelation zwischen hohem PO₂ und Bildung von ROS gemessen über die Lipid-Peroxidation (LPO) [141]. Diese Ansicht ist allerdings umstritten. Man weiß, dass ROS einen erheblichen Anteil am IRI hat und damit bei falscher Kalibrierung zu einem Schaden des Spenderorgans führt, was ja gerade durch die Oxygenierung verhindert werden soll [142].

Ist die Entscheidung der chemischen O₂-Versorgung zu überdenken?

Laut den nachfolgenden Berechnungen [siehe unten] auf Basis von humanen Richtwerten und der Physiologie des Blutes wird der HBOC (Oxyglobin®) bei subnormothermen Temperaturen benötigt. Trotzdem wurden teilweise numerische bzw. signifikant erhöhte Laktatwerte als Zeichen einer möglichen O₂-Schuld gemessen. Bei einem Unterschied von 17°C ist eine 6-8x erhöhte Stoffwechselaktivität zu erwarten [80]. Somit sind beide Wege der ATP-Regeneration über die aerobe und anaerobe Glykolyse stimuliert. Bei gleichzeitig erhöhter Laktatdifferenz nach 30Min. (*) und 60Min. zu den Vergleichsgruppen ohne eine enorm erhöhte Zellschädigung [Tab. 6-8], spricht für eine vergleichsweise stärkere ATP-Synthese mit erhöhter O₂-Schuld.

Das Beispiel 1 vergleicht zwischen physiologischer Situation des Menschen und der MP zur physikalischen O₂-Versorgung der Leber.

➤ **Physiologie des Menschen**

- O₂-Gasmenge im arteriellen menschlichen Blut:
 $PO_2 \times \alpha O_2 = 95\text{mmHg} \times 0,03\text{ml O}_2/\text{l/mmHg} = 2,85\text{ml O}_2/\text{l}$
- O₂-Verbrauch/Bedarf des Menschen in Ruhe bzw. der Leber:
 310ml O₂/Min., davon entfallen 90ml O₂/Min. auf eine 1,5kg schwere normalgroße Leber bzw. 0,06ml O₂/Min/g Lebergewicht.
- Theoretisch gebrauchtes Blutvolumen:
 $\frac{310\text{ml O}_2/\text{Min.}}{2,85\text{ml O}_2/\text{l}} \approx 110\text{l/Min.}$ bzw. $\frac{90\text{ml O}_2/\text{Min.}}{2,85\text{ml O}_2/\text{l}} \approx 32\text{l/Min.}$ nur für die Leber
- Das menschliche Blutvolumen beträgt ja nach Körpergewicht und Körpergröße aber nur etwa 4-6l. Somit ist ganz selbstverständlich, dass der O₂-Bedarf schon allein in Ruhe nicht durch den physikalisch gelösten O₂ gedeckt werden kann. Es bedarf einen suffizienten O₂-Träger, wie den roten Blutfarbstoff, das Hb.

➤ **Beispiel 1:** O₂-Gasmenge der MP und O₂-Bedarf der Leber bei 4, 21 und 36°C

- O₂-Gasmenge im prähepatischen und posthepatischen Perfusat (PO₂ Werte aus [Tab. 12-14] vereinfacht zur besseren Darstellung):
 $P_aO_2 \times \alpha O_2:$
 $>500\text{mmHg} \times 0,03\text{ml O}_2/\text{l/mmHg} \rightarrow \underline{>15\text{ml O}_2/\text{l}}$ bzw. 1,5ml O₂/dl
 $P_vO_2 \times \alpha O_2:$
 $>100\text{mmHg} \times 0,03\text{ml O}_2/\text{l/mmHg} \rightarrow >3\text{ml O}_2/\text{l}$ bzw. 0,3ml O₂/dl
- Das physikalische O₂-Angebot berechnet sich aus der O₂-Gasmenge multipliziert mit der Durchblutung bzw. der Perfusionsrate (5ml/Min. bzw. 0,05dl/Min.):
 $P_aO_2 \times \alpha O_2 \times 0,05\text{dl/Min} \rightarrow \underline{> 0,075 \text{ ml O}_2/\text{dl}}$
 $P_vO_2 \times \alpha O_2 \times 0,05\text{dl/Min} \rightarrow > 0,015 \text{ ml O}_2/\text{dl}$
- O₂-Verbrauch/Bedarf einer 12g Rattenleber bei 36°C: 0,72ml O₂/Min.
- Die Stoffwechselaktivität der Leber ist bei 4°C natürlich deutlich reduziert. Es wird bei 4°C etwa der Faktor 12-13 genannt [80]. Es ist wissenschaftlich fraglich, aber zur Deutlichmachung hilfreich, den O₂-Verbrauch einfach durch 12 zu dividieren. Nähere Daten stehen nicht zur Verfügung:
 → 4°C: 0,06ml O₂/Min.
 → 21°C: 0,10ml O₂/Min.

Somit dürfte bei einer HMP die Rattenleber durch den physikalisch gelösten O_2 von 0,075ml O_2 /dl ausreichend versorgt sein. Bei 21°C darf von einer Reduzierung des Stoffwechsels um den Faktor 7-8 ausgehen werden. Nun deckt der physikalisch gelöste O_2 nicht mehr den Bedarf der Leber bei 21°C. Neben der Erhöhung der Perfusionsrate um 2ml/Min auf 7ml/Min. mit Gefahr des Leberschadens [siehe oben] gewinnt der chemische HBOC als O-MPS in seiner Funktion an Bedeutung. Dieser erhöht den O_2 -Gehalt (GO_2) enorm, wie **Beispiel 2** zeigt. Es ist das Produkt aus O_2 -Kapazität multipliziert mit der O_2 -Sättigung (SO_2). Das chemisch an einen HBOC gebundene O_2 , wie er nur in der O-MPS als Oxyglobin® enthalten war, errechnet sich als bekannte Hufner-Zahl: 1,34ml O_2 /g Hb ohne Met-Hb oder Carboxy-Hb.

➤ **Beispiel 2:** prä- und posthepatischer O_2 -Gehalt und O_2 -Angebot

- Hb-Konzentration des Infusionsbeutels 13g/dl in 125ml und Zugabe der Basis-Lösung von 500ml → 2,6g/dl oder 26mg/ml
- O_2 -Gehalt = O_2 -Kapazität ([Hb] x Hufner-Zahl) x O_2 -Sättigung (Werte aus [Tab. 15] vereinfacht zur besseren Darstellung):

$$G_{aO_2}: 2,6\text{g/dl} \times 1,34\text{ml } O_2/\text{g Hb} \times >85\% \quad \rightarrow \underline{\geq 2,96\text{ml } O_2/\text{dl}}$$

$$G_{vO_2}: 2,6\text{g/dl} \times 1,34\text{ml } O_2/\text{g Hb} \times \geq 70\% \quad \rightarrow > 2,44\text{ml } O_2/\text{dl}$$

- Das chemische O_2 -Angebot berechnet sich aus dem O_2 -Gehalt multipliziert mit der Durchblutung bzw. der Perfusionsrate (5ml/Min. bzw. 0,05dl/Min.):

$$G_{aO_2} \times 0,05\text{dl/Min} \quad \rightarrow \underline{\geq 0,148\text{ml } O_2/\text{dl}}$$

$$G_{vO_2} \times 0,05\text{dl/Min} \quad \rightarrow > 0,122\text{ml } O_2/\text{dl}$$

Schließlich steht der Leber in der O-MPS bei einer Pumpleistung von 5ml/Min. ein gesamtes O_2 -Angebot (physikalisch und chemisch) von 0,223ml O_2 /dl zur Verfügung. Ihr O_2 -Bedarf liegt aber nur bei 0,10ml O_2 /Min. Die O_2 -Ausschöpfung, also O_2 -Bedarf dividiert durch das O_2 -Angebot, liegt bei etwa 45%, welches den humanen Werten von 30% unter physiologischen Temperaturen in etwa entspricht. Damit ist die Leber im Vergleich zum belasteten Skelettmuskel mit maximal 80% quasi ineffizient. Nach den angestellten theoretischen Berechnungen bei physikalischer schlechter O_2 -Ausschöpfung der Leber wird der HBOC also benötigt. In den Versuchen ergeben sich trotzdem erhöhte Laktatwerte als Zeichen einer anaeroben Glykolyse mit einem Mangel an O_2 . Eine Schlussfolgerung wäre die Erhöhung des O_2 -Gehaltes der O-MPS, die durch die Zugabe der Basis-Lösung erheblich auf 2,6g/dl verdünnt wurde. Eine Alternative ist die Erhöhung der SO_2 des HBOC über 89%. Der O_2 -Schuld zeigt sich bei 1h Warmischämie durch die gemessene Erhöhung der Laktatwerten. Endgültige

Ergebnisse könnte eine spätere ATP-Messung geben. Damit scheint eine 1h-MP nicht ausreichend für eine vollständigen Regeneration der Energiespeicher der Spenderleber. Das HBOC besitzt wie alle Hämoglobine (im Gegensatz zum Myoglobin) eine sigmoidale O₂-Bindungskurve, die zur besseren Verfügbarkeit von O₂ führt. Der Kurvenverlauf erklärt die besondere Eigenschaft, denn bei niedrigen PO₂ kann trotzdem viel O₂ gebunden werden. Bei ausreichenden P_aO₂-Werten war das Oxyglobin® trotzdem nicht optimal bis höchstens 89% gesättigt. Bei der errechneten S_{av}O₂ [Tab. 15] gab es eine an allen drei Messpunkten signifikante Differenz von 19% nach 5Min., 18% nach 30Min. und immerhin noch 15% nach 60Min. Eine Erklärung kann die gute Abgabe der O₂-Moleküle durch die Rechtsverschiebung der O₂-Bindungskurve, z.B. durch die angesprochene pH-Wertsenkung von 0,3-0,4 Einheiten auf physiologische 7,4 sein. Die Temperatur hat auf die O₂-Bindungskurve nur sehr geringen Einfluss. Die typische Nebenwirkung des HBOC als Vasokonstriktion mit Erhöhung des PVD [Tab. 20] vermittelt durch Stickoxid-(NO)-Scavenging [143,144] konnte im Vergleich zu den anderen beiden MP-Gruppen nicht beobachtet werden. Eine gute Übersicht über alle auf dem Markt erhältlichen O₂-Träger zum Einsatz in der Anästhesie und Notfallmedizin stellt in unregelmäßigen Abständen Spahn et al. aus Zürich zusammen [145]. Kamada et al. versuchte mit Fluorocarbone als künstliche O₂-Träger die Konservierung der Leber am Rattenmodell zu verbessern [104].

Es gibt derzeit trotzdem keine publizierte Arbeit, die unseren Ansatz mit einer HBOC in einer ähnlichen Art und Weise geprüft hat. Ebenso sind keine Daten zur Verfügung, welche die Basis-Lösung [97] unser verwendeten O-MPS mit und ohne HBOC verglichen hat. Wenn man davon ausgeht, dass HBOC benötigt wird und als Formulierung der Alternativhypothese bessere Ergebnisse bringt, sind die optimalen Bedingungen für die O-MPS herauszufinden. Kann das Oxyglobin® erst seine Vorteile als HBOC bei normothermer (37°C), verlängerte MP (> 1h) oder anderer Zusammensetzung der O-MPS ausspielen? Unsere Arbeitsgruppe hat diese Frage nach Sinn der HBOC derweilen so beantwortet, dass uns Daten zu einem signifikanten Überlebensvorteil einer 6h-MP unter subnormothermen Temperaturen gegenüber einer SCS vorliegen [136]. Eine mögliche Wirkung des HBOC unter normothermen Bedingungen muss geprüft werden. Der erwähnte Laktatanstieg zeigt zwar eine O₂-Schuld an, aber nur als Ersatzmarker dient. Erst im Überleben zeigt sich der Erfolg der HBOC. Dafür sind auch am menschenähnlicheren Organismus wie dem Schwein

Versuchsreihen notwendig. Abschließend ist die Richtung der HBOC in der Transplantationsmedizin nicht abzusehen.

Trotz eindeutiger Überlebensdaten mit einem sehr guten Outcome für die Kontrolle und einem guten für die B-MPS und einem sehr schlechten Outcome ohne überlebte Tiere in der H-MPS und O-MPS bei nicht eindeutigen peri- und postoperativen Biomarkern ist die Bewertung der Ergebnisse ernüchternd was die Etablierung eines HBOC während der MP angeht.

Die Laborwerte für das IRI, welches der Pathomechanismus für das akute Transplantatversagen bzw. der primärer Non-Funktion ist [146], zeigten keine signifikanten Unterschiede. Zum IRI sind in beide Richtungen keine definitiven Aussagen möglich. Mehrere spätere Labormessungen (z.B. am ersten und zweiten postoperativen Tag) hätte die anfängliche Enzymerhöhung durch Störfaktoren (intravasale Thrombolysen mit Folge der Akute-Phase-Reaktion) reduzieren können. Die AST hat die geringste Halbwertszeit von 17h, die ALT von 48h und die LDH im Bereich von mehreren Tagen (abhängig von den Isotypen). Mehrmalige postoperative Blutentnahmen sind trotz Sedierung mit viel Stress für das Tier verbunden. Eventuell wären hier messbare Gruppenunterschiede aufgrund von besserer Organkonservierung vorhanden gewesen. An einer Therapie (Präkonditionierung und Antioxidantien [100,147]) gegen den IRI-vermittelten Zelltod gibt es seit Jahrzehnten Grundlagenforschung mit interessanten Pathways leider ohne eine relevante klinische Konsequenz [78].

Die 1h-MP war ein Pilotexperiment, um die mögliche klinische und ökonomische Belastung einer MP eines Spenderorgans so gering wie möglich zu halten. Die Konsequenz aus diesen Ergebnissen muss eine Fortführung der Forschung im experimentellen Status sein.

Wenn das Setting der HMP bzw. s/NMP ausreichend erforscht ist, stellt sich die Frage nach der Praktikabilität, also der Translation aus der Forschung in den klinischen Alltag. Geht man bei NHBD nach kontrollierten Herztod (Gruppe III und IV) innerhalb des Krankenhauses nach Maastricht-Kriterien aus [Tab. 3], dann würde die Umsetzung einfacher sein, als nach einem unkontrollierten Herztod (Gruppe I und II) außerhalb des Krankenhauses. Die Ergebnisse der LTx sind für einen kontrollierten besser als für einen unkontrollierten Herztod [66]. Ein mögliches Szenario wäre, dass die Leber eines

Spenders zum erklärten NHBD nach dem Konzept der Organprotektion- und konservierung schnellstmöglich der MP zugeführt wird. Wann ist der beste Zeitpunkt für die MP? Ein oft publiziertes Konzept geht von der short-term MP nach Transport zum Empfänger vor der eigentlichen LTx aus. Das hat verschiedene Gründe:

- Die Entnahme der Leber kann an vielen beliebigen Krankenhäusern mit einer Intensivstation (nur Gruppe III und IV) stattfinden. Die MP erfordert eine enorme Logistik, technische Ausstattung und fachliches Know-how über die nur ein Transplantationszentrum verfügt.
- Die Reserven eines Organs sind zu Beginn der Ischämie am Größten. Die MP zu diesen Zeitpunkt zu beginnen, ist nicht besonders sinnvoll. Erst, wenn sich die Reserven sich dem Ende neigen, soll die MP als eine von vielen Aufgaben [siehe 1.5.3], das Spenderorgan regenerieren und damit für seine Organfunktion im Empfänger vorbereiten.
- Es gibt ausreichend Daten für eine endotheliale Schädigung bei einer Long-term HMP mit Folge einer mikrovaskulären Obstruktion und interstitiellen Ödembildung trotz Protektion der Hepatozyten [148,149].

Eine MP zum Ende der Ischämiezeit dem Organ zuzuführen, ist eine Möglichkeit. Eine andere ist ein mobiles und leicht zu bedienendes Organ Care System (OCS®) wie es die US-Firma TransMedics Inc. schon für Herz und Lunge als Long-term MP den HBD bereitstellt. Frühere mobile Konzepte ohne viel Elektronik wurden schon Ende der 70er Jahren publiziert [150]. Die modernen Einheiten sind so groß wie ein mobiles Ultraschallgerät. Sie sorgen dafür, dass die Ischämiezeit eines Organs etwas überspitzt ausgedrückt in eine Regenerationszeit geändert wird. Es besteht aus einer portablen Plattform mit Wireless, dem organspezifischen Perfusionsmodul und dem Perfusionsset. Seine Funktionen bestehen im Monitoring und der Regeneration durch eine Oxygenierung, der Erwärmung und dem pulsatilen Perfusionsfluss. Je nach Spenderorgan würde das Herz schlagen oder die Lunge atmen, um den physiologischen Bedingungen so nah wie möglich zu kommen. Das Konzept für das Herz zeigte schon große Erfolge (PROCEED Trial) und ist für die Leber in Erprobung. Das OCS® kostet zugegebener Maßen etwa 200.000€, quasi astronomisch gegenüber einer mehreren 1000€ günstigeren SCS. Wenn damit aber Komplikations-, Kranken- und Pflegekosten eingespart werden, eine durchaus ökonomische Sache, die nicht nur Leben rettet [151,152].

Nach Etablierung der MP am Menschen, was in ferner Zukunft wünschenswert wäre, muss die Entwicklung eines Scores am Menschen vorangetrieben werden. Inhalt dieses evaluierten Scores könnten Leberenzyme und andere Biomarker (ATP-Reserven u.a.) aus dem OCS®, die Dauer der Warmischämie und die Körpertemperatur des Spenders sein. Ziel wäre ein spenderleberspezifisches Setting aus Temperatur, Wahl der Perfusionslösung, Dauer der MP und bestenfalls auf das Transplantatüberleben zu schließen.

4.3. Rechtliche Lage der NHBD in Deutschland

Das TPG äußert sich sehr deutlich zum NHBD: *„Es dürfen nur Organe vermittelt werden, die im Einklang mit den am Ort der Entnahme geltenden Rechtsvorschriften entnommen worden sind, soweit deren Anwendung nicht zu einem Ergebnis führt, das mit wesentlichen Grundsätzen des deutschen Rechts, insbesondere mit den Grundrechten, offensichtlich unvereinbar ist“* [§12 Abs. 1]. Der Hirntod – nicht der Herztod – dient zwar nicht als endgültiges Todeszeichen, aber als Zustand zur möglichen Organ- und Gewebeentnahme nach *TPG §3 Abs. 2* [31]. Dabei muss klar getrennt werden, dass der Hirntod nicht mit dem Tod eines Menschen gleichzusetzen ist, wie immer wieder falsch zitiert und erklärt wird. Organe und Gewebe, die zur Transplantation geeignet oder auch ungeeignet sind, werden am Leben gehalten. Organfunktionen und spinale motorische Reflexe, die das Leben scheinbar erkennen lassen, lassen am Tod des Spenders zweifeln. Dabei ist die Problematik ohne große ontologische Diskussion einfach zu klären: Ein Organ- und Gewebespender ist weder tot noch lebt er, er ist hirntot. Dieser Zustand wird weltweit als sicherste Zeichen gewertet, dass der Spender auf einem irreversiblen Weg zum Tod ist. Andersherum ist ein Locked-In-Syndrom oder ein apallisches Syndrom (Wachkoma, engl. minimal conscience state (MCS) oder permanent vegetative state) nicht mit dem Hirntod zu vereinbaren bzw. beim Locked-In-Syndrom sogar genau das Gegenteil. Aus diesem Grund ist es fraglich, warum es auch im Jahr 2012 noch Debatten über die Richtigkeit des Hirntodes gibt. Der NHBD dagegen scheint in Deutschland ein abgeschlossenes Tabuthema zu sein. Im Bericht des IGES-Institut zur *Situation der Transplantationsmedizin zehn Jahre nach Inkrafttreten des TPG* wird mit folgenden Worten auf die NHBD eingegangen: *„Das NHBD-Verfahren zur Todesfeststellung als Alternative zum Hirntodkonzept wird von den Interviewpartnern nahezu einhellig abgelehnt“* [153]. Die Stellungnahme des Bundesministeriums für Gesundheit

unterstützt diese Ansicht. Auch der 110. Deutsche Ärztetag wie deren Dachverein die BÄK lehnt den NHBD zur Erweiterung des Spenderpools ab [53,154].

Wird dem NHBD überhaupt eine Chance zur Erweiterung des Spenderpools gelassen? Die Grenzen zwischen reversiblen Herztod, irreversiblen Herztod und irreversiblen Hirntod sind dabei fließend. Der irreversible Herztod ist dem irreversiblen Hirntod trotz verschiedener diagnostischer Mittel ohne Zweifel gleichgestellt. Gleichwohl deutlich schwieriger ist, die Frage nach dem klinischen Tod, der Wiederbelebungs- und Reanimationspflicht und die schnelle Organ- und Gewebeentnahme, um die warme Ischämiezeit so gering wie möglich zu halten.

Es gibt keine klare wissenschaftliche Trennschärfe zwischen den reversiblen und irreversiblen Herztod. Diese Entscheidung wird täglich im Noteinsatz außerhalb oder innerhalb des Krankenhauses mit medizinischen Wissen und Erfahrung getroffen. Eine zu kurze Reanimation zu wählen, kann die falsche Entscheidung für den Reanimierten gegen dessen Leben sein. Eine zu lange Reanimation zu wählen, kann die falsche Entscheidung für das Organ gegen den möglichen Empfänger sein. Um diesem Konflikt näher zu kommen, sollte sich jeder die Frage stellen:

Bin ich bereit in einem denkbar reversiblen Prozess des Sterbens mein Leben für einen fremden Menschen herzugeben? Diese Entscheidung muss jeder für sich treffen. Kein Gesetz könnte uns diese verfassungskonform und ohne Konfliktpotenzial abnehmen.

Die Diskussion lässt sich in drei Statements zusammenfassen:

Die MP zur Protektion des Spenderorgans ist nicht sinnvoll. Es bleibt weiterhin offen in welchen Umfang diese durchzuführen ist.

- Dabei ist die HMP, insbesondere bei der Niere weltweit geläufig und wenn angewandt mit den derzeitigen Perfusionslösungen der experimentelle Standard. Die Leber ist von ihrem Aufbau und Funktion ein anderes Organ als die Niere. Muss sogar bei ihr die sNMP/NMP der Vorzug gegeben werden?

Ohne physiologische Temperaturen ist keine Regeneration, mit typisch negativen Effekten wie der Hypothermie-vermittelten Vasokonstriktion, möglich. Mit sub/normothermen Temperaturen ist die Gefahr des massiven Organschadens vorhanden. Die Lösung dieses circulus vitiosus könnte die Verbesserung der azellulären Perfusionslösungen unter normothermen Bedingungen als Blutäquivalent und nicht nur als Blutersatz sein. Demzufolge gehört auch mehr dazu

als nur ein HBOC bereitzustellen. Eine Arbeitsgruppe aus Oxford konnte nicht destotrotz an einer sehr kleinen Anzahl von NHBD (n = 4) signifikante Vorteile aufzeigen. Es wurden eine kombinierte arterielle und venöse 24h-NMP mit Vollblut gegenüber der 24h-SCS (n = 4) mit UW® verglichen. Es verbessern sich in der Reperfusionphase die Synthese von Galle (10ml/h vs. keine Synthese) und Faktor V (263units/dl vs. 12units/dl), sowie gibt es einen deutlichen laborchemisch in der ALT, AST sowie LDH und histologisch gemessenen Unterschied im Leberschaden (kaum Nekrose vs. 66% Nekrose) [155]. Neue Daten von dieser Arbeitsgruppe in vivo liegen nicht vor. Experimenteller Standard bleibt in der MP der Leber die B-MPS (= UW®-MP) wie die Ergebnisse zeigen konnten.

- Die Nutzung der O-MPS scheint bei einer kurzzeitigen MP (1h) derzeit im vorgestellten Setting nicht sinnvoll.
- Die Dauer und Temperatur der MP insbesondere im Einsatz mit verschiedenen Lösungen muss weiter erprobt werden. Die Entwicklung eines prospektiv evaluierten Scores zum Erfolg der MP an einer marginalen Spenderleber ist wünschenswert. Ein Retrospektiver Score für ECD mit Einfluss der warmen Ischämiezeit ohne speziell auf die NHBD einzugehen, ist publiziert [156].

III. Literaturverzeichnis

1. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, et al. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology* 2005;42(6):1364-1372.
2. Chun LJ, Tong MJ, Busuttil RW, et al. Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *J Clin Gastroenterol* 2009;43(4):342-349.
3. Heimbach JK, Gores GJ, Nagorney DM, et al. Liver transplantation for perihilar cholangiocarcinoma after aggressive neoadjuvant therapy: a new paradigm for liver and biliary malignancies? *Surgery* 2006;140(3):331-334.
4. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996;334(11):693-699.
5. Yao FY, Ferrell L, Bass NM, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: comparison of the proposed UCSF criteria with the Milan criteria and the Pittsburgh modified TNM criteria. *Liver Transpl* 2002;8(9):765-774.
6. European Liver Transplant Registry (ELTR), 2010. (Zugriff am 31.01.2012, auf <http://www.eltr.org/>.)
7. Beecher H. A definition of irreversible coma. Report of the Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School to Examine the Definition of Brain Death. *JAMA* 1968;205(6):337-340.
8. Bundesärztekammer. Richtlinien zur Feststellung des Hirntodes. *Dtsch Arztlbl* 1998;95(30):A-1861/B-1601/C-1485.
9. Starzl TE, Marchioro TL, Vonkaulla KN, et al. Homotransplantation of the Liver in Humans. *Surgery, gynecology & obstetrics* 1963;117:659-676.

10. Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg* 1964;1:1-85.
11. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, et al. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973;60(8):646-649.
12. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 2001;33(2):464-470.
13. MELD/PELD Calculator Documentation. United Network for Organ Sharing. (Zugriff am 04.01.2012, auf http://www.unos.org/docs/MELD_PELD_Calculator_Documentation.pdf.)
14. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology* 2003;124(1):91-96.
15. Richtlinien für die Wartelistenführung und Organvermittlung zur Lebertransplantation: Bundesärztekammer; 2011.
16. Ruf AE, Kremers WK, Chavez LL, et al. Addition of serum sodium into the MELD score predicts waiting list mortality better than MELD alone. *Liver Transpl* 2005;11(3):336-343.
17. Biggins SW, Kim WR, Terrault NA, et al. Evidence-based incorporation of serum sodium concentration into MELD. *Gastroenterology* 2006;130(6):1652-1660.
18. McDiarmid SV, Anand R, Lindblad AS, et al. Development of a pediatric end-stage liver disease score to predict poor outcome in children awaiting liver transplantation. *Transplantation* 2002;74(2):173-181.
19. Pfister ED, Becker T, Lehner F, et al. Implications of Organ Allocation on Waitlist Time for Liver Transplantation in Children and Adolescents - Review on the Past 10 Years in the Eurotransplant Region. *Transplantationsmedizin* 2011;23:38-46.

20. Freeman RB, Wiesner RH, Edwards E, et al. Results of the first year of the new liver allocation plan. *Liver Transpl* 2004;10(1):7-15.
21. Lerut J. Reports from the Eurotransplant Advisory Committees. *Eurotransplant Newsletter* 2006;(207):10-12.
22. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, et al. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989;97(2):439-445.
23. Bernal W, Donaldson N, Wyncoll D, et al. Blood lactate as an early predictor of outcome in paracetamol-induced acute liver failure: a cohort study. *Lancet* 2002;359(9306):558-563.
24. Bismuth H, Samuel D, Castaing D, et al. Orthotopic liver transplantation in fulminant and subfulminant hepatitis. The Paul Brousse experience. *Ann Surg* 1995;222(2):109-119.
25. Bundesärztekammer. Richtlinien zur Organtransplantation gem. §16 TPG. *Dtsch Arztlbl* 2008;104:B1261-B1264.
26. Bundesärztekammer. Richtlinien zur Organtransplantation gem. §16 TPG. *Dtsch Arztlbl* 2007;104(46):A-3208/B-2824/C-2724.
27. Weismuller TJ, Negm A, Becker T, et al. The introduction of MELD-based organ allocation impacts 3-month survival after liver transplantation by influencing pretransplant patient characteristics. *Transpl Int* 2009;22(10):970-978.
28. Aktuelle Entwicklungen der Lebertransplantation in Deutschland. 2011. (Zugriff am 13.1.2012, auf <https://www.thieme-connect.com/ejournals/pdf/zfg/doi/10.1055/s-0029-1245946.pdf>.)
29. Organtransplantation und Organspende: Daten und Grafiken. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO), 2013. (Zugriff am 15.5.2013, auf <http://www.dso.de/>.)

30. Rückgang der Organspenden in 2011 moderater als erwartet. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO), 2012. (Zugriff am 20.06.2012, auf <http://www.dso.de/dso-pressemitteilungen/einzelansicht/article/rueckgang-der-organspenden-in-2011-moderater-als-erwartet.html>.)
31. Transplantationsgesetz (TPG). In: Bundesministerium der Justiz; 1997.
32. Patienteninformation: Deutschland. Eurotransplant. (Zugriff am 5.12.2011, auf http://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=pat_germany.)
33. Matesanz R, Dominguez-Gil B, Coll E, et al. Spanish experience as a leading country: what kind of measures were taken? *Transpl Int* 2011;24(4):333-343.
34. Transplant activity report.: National Health Service Blood and Transplant (NHSBT); 2010-2011.
35. Rithalia A, McDaid C, Suekarran S, et al. Impact of presumed consent for organ donation on donation rates: a systematic review. *BMJ* 2009;338:a3162.
36. Gesetzliche Regelungen Europa 2011. Organspende-Info. (Zugriff am 11.12.2011, auf http://www.organspende-info.de/downloads/24-134-618/Gesetzliche%20Regelungen_Europa_2011.pdf.)
37. Gabel H. National donor registers. A worldwide survey. *Ann Transplant* 2004;9(1):15-18.
38. Transplantationszentrum Augsburg: Der Wettlauf mit dem Tod. Augsburger Allgemeine. (Zugriff am 11.12.2011, auf <http://www.augsburger-allgemeine.de/augsburg/Der-Wettlauf-mit-dem-Tod-id17647671.html>.)
39. Transplantationsbeauftragte in Krankenhäusern. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO). (Zugriff am 03.01.2012, auf www.dso.de/uploads/tx_dsodl/TX-Beauftragte_in_KH.pdf.)

40. Bundesärztekammer. Richtlinien zur Organtransplantation gem. §16 TPG. Dtsch Arztlbl 2007;104(49):A3428-A3430.
41. Yamaoka Y, Washida M, Honda K, et al. Liver transplantation using a right lobe graft from a living related donor. Transplantation 1994;57(7):1127-1130.
42. Raia S, Nery JR, Mies S. Liver transplantation from live donors. Lancet 1989;2(8661):497.
43. Oertel M, Shafritz DA. Stem cells, cell transplantation and liver repopulation. Biochimica et biophysica acta 2008;1782(2):61-74.
44. Aduen JF, Sujay B, Dickson RC, et al. Outcomes after liver transplant in patients aged 70 years or older compared with those younger than 60 years. Mayo Clinic proceedings Mayo Clinic 2009;84(11):973-978.
45. Collins BH, Pirsch JD, Becker YT, et al. Long-term results of liver transplantation in older patients 60 years of age and older. Transplantation 2000;70(5):780-783.
46. Garcia CE, Garcia RF, Mayer AD, et al. Liver transplantation in patients over sixty years of age. Transplantation 2001;72(4):679-684.
47. Bismuth H, Houssin D. Reduced-sized orthotopic liver graft in hepatic transplantation in children. Surgery 1984;95(3):367-370.
48. Bismuth H, Morino M, Castaing D, et al. Emergency orthotopic liver transplantation in two patients using one donor liver. Br J Surg 1989;76(7):722-724.
49. Emre S, Umman V. Split liver transplantation: an overview. Transplant Proc 2011;43(3):884-887.
50. Vagefi PA, Parekh J, Ascher NL, et al. Outcomes with split liver transplantation in 106 recipients: the University of California, San Francisco, experience from 1993 to 2010. Archives of surgery 2011;146(9):1052-1059.

51. Kootstra G, Jacobs RW. Non heart-beating donors. Eurotransplant Newsletter 1998;(148):9.
52. Reich DJ, Mulligan DC, Abt PL, et al. ASTS recommended practice guidelines for controlled donation after cardiac death organ procurement and transplantation. Am J Transplant 2009;9(9):2004-2011.
53. Bundesärztekammer. Beschlussprotokoll: Ethische Aspekte der Organ- und Gewebetransplantation. In: 110 Deutscher Ärztetag. Münster; 2007:10.
54. Steinbrook R. Organ donation after cardiac death. N Engl J Med 2007;357(3):209-213.
55. Monbaliu D, Pirenne J, Talbot D. Liver transplantation using Donation after Cardiac Death donors. J Hepatol 2012;56(2):474-485.
56. Annual Reports.: Eurotransplant; 2010.
57. Wijnen RM, Booster MH, Stubenitsky BM, et al. Outcome of transplantation of non-heart-beating donor kidneys. Lancet 1995;345(8957):1067-1070.
58. Daemen JW, Kootstra G, Wijnen RM, et al. Nonheart-beating donors: the Maastricht experience. Clin Transpl 1994:303-316.
59. Booster MH, Wijnen RM, Ming Y, et al. In situ perfusion of kidneys from non-heart-beating donors: the Maastricht protocol. Transplant Proc 1993;25(1 Pt 2):1503-1504.
60. Kootstra G, Daemen JH, Oomen AP. Categories of non-heart-beating donors. Transplant Proc 1995;27(5):2893-2894.
61. Sanchez-Fructuoso AI, Prats D, Torrente J, et al. Renal transplantation from non-heart beating donors: a promising alternative to enlarge the donor pool. Journal of the American Society of Nephrology : JASN 2000;11(2):350-358.

62. Chaib E. Non heart-beating donors in England. *Clinics (Sao Paulo)* 2008;63(1):121-134.
63. Merion RM, Pelletier SJ, Goodrich N, et al. Donation after cardiac death as a strategy to increase deceased donor liver availability. *Ann Surg* 2006;244(4):555-562.
64. Alkofer B, Samstein B, Guarrera JV, et al. Extended-donor criteria liver allografts. *Semin Liver Dis* 2006;26(3):221-233.
65. Bundesärztekammer. Richtlinien zur Organtransplantation gem. §16 TPG. *Dtsch Arztlbl* 2004;101(51-52):A-3518/B-2974/C-2814.
66. Casavilla A, Ramirez C, Shapiro R, et al. Experience with liver and kidney allografts from non-heart-beating donors. *Transplantation* 1995;59(2):197-203.
67. Abt PL, Desai NM, Crawford MD, et al. Survival following liver transplantation from non-heart-beating donors. *Ann Surg* 2004;239(1):87-92.
68. Grewal HP, Willingham DL, Nguyen J, et al. Liver transplantation using controlled donation after cardiac death donors: an analysis of a large single-center experience. *Liver Transpl* 2009;15(9):1028-1035.
69. Dubbeld J, Hoekstra H, Farid W, et al. Similar liver transplantation survival with selected cardiac death donors and brain death donors. *Br J Surg* 2010;97(5):744-753.
70. Detry O, Donckier V, Lucidi V, et al. Liver transplantation from donation after cardiac death donors: initial Belgian experience 2003-2007. *Transpl Int* 2010;23(6):611-618.
71. Foley DP, Fernandez LA, Levenson G, et al. Biliary complications after liver transplantation from donation after cardiac death donors: an analysis of risk factors and long-term outcomes from a single center. *Ann Surg* 2011;253(4):817-825.
72. Consensus guidelines on Organ Donation after Circulatory Death: British Transplantation Society (BTS); 2010.

73. Potts JT, Herdman R. Non-Heart-Beating Organ Transplantation: Medical and Ethical Issues in Procurement. In: Institute of Medicine; 1997.
74. Ledinh H, Meurisse N, Delbouille MH, et al. Contribution of donors after cardiac death to the deceased donor pool: 2002 to 2009 University of Liege experience. *Transplant Proc* 2010;42(10):4369-4372.
75. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81(5):637-647.
76. Goode HF, Webster NR, Howdle PD, et al. Reperfusion injury, antioxidants and hemodynamics during orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1994;19(2):354-359.
77. Hochachka PW. Defense strategies against hypoxia and hypothermia. *Science* 1986;231(4735):234-241.
78. Weigand K, Brost S, Steinebrunner N, et al. Ischemia/Reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology. *HPB surgery : a world journal of hepatic, pancreatic and biliary surgery* 2012;2012:176723.
79. Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, et al. Reperfusion injury to endothelial cells following cold ischemic storage of rat livers. *Hepatology* 1989;10(3):292-299.
80. Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988;45(4):673-676.
81. Dr. F. Köhler Chemie - HTK Solution (Custodiol). (Zugriff am 17.02.2012, auf [http://www.koehler-chemie.de/deutsch/startseite/.](http://www.koehler-chemie.de/deutsch/startseite/))
82. Erhard J, Lange R, Scherer R, et al. Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution versus University of Wisconsin (UW) solution for organ preservation in human liver transplantation. A prospective, randomized study. *Transpl Int* 1994;7(3):177-181.

83. Preservation Solutions (PSI) - CoStorSol = Belzer UW® Cold Storage Solution. (Zugriff am 20.02.2012, auf http://www.preservationsolutions.com/products_costorsol.html.)
84. Kalayoglu M, Sollinger HW, Stratta RJ, et al. Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet* 1988;1(8586):617-619.
85. Feng L, Zhao N, Yao X, et al. Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution vs. University of Wisconsin solution for liver transplantation: a systematic review. *Liver Transpl* 2007;13(8):1125-1136.
86. Mangus RS, Fridell JA, Vianna RM, et al. Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate solution and University of Wisconsin solution in extended criteria liver donors. *Liver Transpl* 2008;14(3):365-373.
87. Stewart ZA, Cameron AM, Singer AL, et al. Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate (HTK) is associated with reduced graft survival in deceased donor livers, especially those donated after cardiac death. *Am J Transplant* 2009;9(2):286-293.
88. Institut Georges Lopez (IGL) Group - Belzer MPS Solution. (Zugriff am 20.12.2012, auf http://www.igl-group.com/index.php?option=com_portfolio&id=184&view=item&Itemid=84&lang=en.)
89. Baicu SC, Taylor MJ. Acid-base buffering in organ preservation solutions as a function of temperature: new parameters for comparing buffer capacity and efficiency. *Cryobiology* 2002;45(1):33-48.
90. Lee CY, Mangino MJ. Preservation methods for kidney and liver. *Organogenesis* 2009;5(3):105-112.
91. Lauschke H, Olschewski P, Tolba R, et al. Oxygenated machine perfusion mitigates surface antigen expression and improves preservation of predamaged donor livers. *Cryobiology* 2003;46(1):53-60.

92. Zapletal C, Bode A, Lorenz MW, et al. Effects of hemodilution with a hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC-201) on ischemia/reperfusion injury in a model of partial warm liver ischemia of the rat. *Microvasc Res* 2009;78(3):386-392.
93. Topp SA, Krieg A, Koch A, et al. Hemoglobin-glutamer 200 reduces reperfusion injury of the cold preserved rat liver by induction of heme oxygenase-1. *J Surg Res* 2008;150(2):243-254.
94. OPK Biotech - Oxyglobin Solution. (Zugriff am 16.02.2012, auf <http://www.oxyglobin.com/oxyglobin.php>.)
95. OPK Biotech - Hemopure Solution. (Zugriff am 16.02.2012, auf <http://www.hemopure.co.za/>.)
96. Auker CR, McCarron RM. US Navy experience with research on, and development of, hemoglobin-based oxygen carriers. *J Trauma* 2011;70(5 Suppl):S40-41.
97. Minor T, Saad S, Kotting M, et al. Short-term restoration by gaseous oxygen for long-term preservation of predamaged livers from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 1997;29(8):3474-3475.
98. Belzer FO, Ashby BS, Dunphy JE. 24-hour and 72-hour preservation of canine kidneys. *Lancet* 1967;2(7515):536-538.
99. Belzer FO, Ashby BS, Gulyassy PF, et al. Successful seventeen-hour preservation and transplantation of human-cadaver kidney. *N Engl J Med* 1968;278(11):608-610.
100. Olschewski P, Dombrowski F, Tolba R, et al. On the possible impact of the flushout solution in conditioning livers from non-heartbeating donors during preservation by gaseous oxygen. *Transplantation proceedings* 2004;36(7):1931-1932.

101. Isselhard W, Berger M, Denecke H, et al. Metabolism of canine kidneys in anaerobic ischemia and in aerobic ischemia by persufflation with gaseous oxygen. *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 1972;337(2):87-106.
102. Minor T, Klauke H, Vollmar B, et al. Rat liver transplantation after long-term preservation by venous systemic oxygen persufflation. *Transplant Proc* 1997;29(1-2):410-411.
103. Minor T, Isselhard W, Kunz G, et al. Involvement of oxygen in harvesting injury of the liver. An experimental study including substrate free organ persufflation to evaluate a specific therapeutic approach. *Research in experimental medicine Zeitschrift fur die gesamte experimentelle Medizin einschliesslich experimenteller Chirurgie* 1991;191(3):167-175.
104. Kamada N, Calne RY, Wight DG, et al. Orthotopic rat liver transplantation after long-term preservation by continuous perfusion with fluorocarbon emulsion. *Transplantation* 1980;30(1):43-48.
105. Bessems M, Doorschodt BM, van Vliet AK, et al. Machine perfusion preservation of the non-heart-beating donor rat livers using polysol, a new preservation solution. *Transplant Proc* 2005;37(1):326-328.
106. Tolboom H, Pouw R, Uygun K, et al. A model for normothermic preservation of the rat liver. *Tissue Eng* 2007;13(8):2143-2151.
107. Guarrera JV, Estevez J, Boykin J, et al. Hypothermic machine perfusion of liver grafts for transplantation: technical development in human discard and miniature swine models. *Transplant Proc* 2005;37(1):323-325.
108. Pienaar BH, Lindell SL, Van Gulik T, et al. Seventy-two-hour preservation of the canine liver by machine perfusion. *Transplantation* 1990;49(2):258-260.
109. Guarrera JV, Henry SD, Samstein B, et al. Hypothermic machine preservation in human liver transplantation: the first clinical series. *Am J Transplant* 2010;10(2):372-381.

110. Monbaliu D, Brassil J. Machine perfusion of the liver: past, present and future. *Current opinion in organ transplantation* 2010;15(2):160-166.
111. Zimmermann FA, Butcher GW, Davies HS, et al. Techniques for orthotopic liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic responses to fully allogeneic liver grafts. *Transplant Proc* 1979;11(1):571-577.
112. Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage. *Transplantation* 1979;28(1):47-50.
113. Lee S, Charters AC, Chandler JG, et al. A technique for orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 1973;16(6):664-669.
114. Spiegel HU, Palmes D. Surgical techniques of orthotopic rat liver transplantation. *J Invest Surg* 1998;11(2):83-96.
115. Ariyakhagorn V, Schmitz V, Olschewski P, et al. Improvement of microsurgical techniques in orthotopic rat liver transplantation. *J Surg Res* 2009;153(2):332-339.
116. Minor T, Hachenberg A, Tolba R, et al. Fibrinolytic preflush upon liver retrieval from non-heart beating donors to enhance postpreservation viability and energetic recovery upon reperfusion. *Transplantation* 2001;71(12):1792-1796.
117. Gok MA, Shenton BK, Buckley PE, et al. Use of thrombolytic streptokinase as a preflush in the NHBD procurement. *Transplant Proc* 2003;35(2):769-770.
118. Broschüre Oxygenator EOS D905: Sorin Group.
119. Ukigusa M, Lie TS, Niehaus KJ, et al. [Prolongation of ischemic tolerance time of donor livers by alkaline preservation solutions]. *Research in experimental medicine Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin einschliesslich experimenteller Chirurgie* 1984;184(2):103-113.

120. Holzen JP, Palmes D, Langer M, et al. Microsurgical training curriculum for learning kidney and liver transplantation in the rat. *Microsurgery* 2005;25(8):614-623.
121. Hori T, Nguyen JH, Zhao X, et al. Comprehensive and innovative techniques for liver transplantation in rats: a surgical guide. *World J Gastroenterol* 2010;16(25):3120-3132.
122. Vekemans K, Monbaliu D, Balligand E, et al. Improving the function of liver grafts exposed to warm ischemia by the Leuven drug protocol: exploring the molecular basis by microarray. *Liver Transpl* 2012;18(2):206-218.
123. Dutkowski P, Graf R, Clavien PA. Rescue of the cold preserved rat liver by hypothermic oxygenated machine perfusion. *Am J Transplant* 2006;6(5 Pt 1):903-912.
124. Dutkowski P, Schonfeld S, Odermatt B, et al. Rat liver preservation by hypothermic oscillating liver perfusion compared to simple cold storage. *Cryobiology* 1998;36(1):61-70.
125. Dutkowski P, Furrer K, Tian Y, et al. Novel short-term hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) system prevents injury in rat liver graft from non-heart beating donor. *Ann Surg* 2006;244(6):968-976; discussion 976-967.
126. Compagnon P, Clement B, Campion JP, et al. Effects of hypothermic machine perfusion on rat liver function depending on the route of perfusion. *Transplantation* 2001;72(4):606-614.
127. Monbaliu DR, Debbaut C, Hillewaert WJ, et al. Flow competition between hepatic arterial and portal venous flow during hypothermic machine perfusion preservation of porcine livers. *Int J Artif Organs* 2012;35(2):119-131.
128. Tamaki T, Kamada N, Wight DG, et al. Successful 48-hour preservation of the rat liver by continuous hypothermic perfusion with haemaccel-isotonic citrate solution. *Transplantation* 1987;43(4):468-471.

129. Olschewski P, Tolba R, Akbar S, et al. Use of HTK solution for hypothermic machine perfusion: an alternative for the preservation of less than optimal donor livers? -An experimental study in rats. *Transplantation proceedings* 2003;35(2):767.
130. Guarrera JV, Henry SD, Chen SW, et al. Hypothermic machine preservation attenuates ischemia/reperfusion markers after liver transplantation: preliminary results. *J Surg Res* 2011;167(2):e365-373.
131. Vairetti M, Ferrigno A, Carlucci F, et al. Subnormothermic machine perfusion protects steatotic livers against preservation injury: a potential for donor pool increase? *Liver Transpl* 2009;15(1):20-29.
132. Ferrigno A, Rizzo V, Boncompagni E, et al. Machine perfusion at 20 degrees C reduces preservation damage to livers from non-heart beating donors. *Cryobiology* 2011;62(2):152-158.
133. Olschewski P, Gass P, Ariyakhagorn V, et al. The influence of storage temperature during machine perfusion on preservation quality of marginal donor livers. *Cryobiology* 2010;60(3):337-343.
134. Hellinger A, Fiegen R, Lange R, et al. Preservation of pig liver allografts after warm ischemia: normothermic perfusion versus cold storage. *Langenbecks Archiv fur Chirurgie* 1997;382(4):175-184.
135. Schon MR, Kollmar O, Wolf S, et al. Liver transplantation after organ preservation with normothermic extracorporeal perfusion. *Ann Surg* 2001;233(1):114-123.
136. Olschewski P, Gass P, Schmitz V. Hemoglobin based oxygen carriers for machine preservation livers at 21°C. In. *Transplant International* 2010.
137. de Rougemont O, Breitenstein S, Leskosek B, et al. One hour hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects nonviable liver allografts donated after cardiac death. *Ann Surg* 2009;250(5):674-683.

138. Menasche P, Termignon JL, Pradier F, et al. Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. *Eur J Cardiothorac Surg* 1994;8(4):207-213.
139. Schon MR, Hunt CJ, Pegg DE, et al. The possibility of resuscitating livers after warm ischemic injury. *Transplantation* 1993;56(1):24-31.
140. Kim JS, Boudjema K, D'Alessandro A, et al. Machine perfusion of the liver: maintenance of mitochondrial function after 48-hour preservation. *Transplant Proc* 1997;29(8):3452-3454.
141. Luer B, Koetting M, Efferz P, et al. Role of oxygen during hypothermic machine perfusion preservation of the liver. *Transpl Int* 2010;23(9):944-950.
142. Zhang W, Wang M, Xie HY, et al. Role of reactive oxygen species in mediating hepatic ischemia-reperfusion injury and its therapeutic applications in liver transplantation. *Transplant Proc* 2007;39(5):1332-1337.
143. Dietz NM, Martin CM, Beltran-del-Rio AG, et al. The effects of cross-linked hemoglobin on regional vascular conductance in dogs. *Anesth Analg* 1997;85(2):265-273.
144. Kasper SM, Walter M, Grune F, et al. Effects of a hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC-201) on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery. *Anesth Analg* 1996;83(5):921-927.
145. Kocian R, Spahn DR. Haemoglobin, oxygen carriers and perioperative organ perfusion. *Best practice & research Clinical anaesthesiology* 2008;22(1):63-80.
146. Fan C, Zwacka RM, Engelhardt JF. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. *Journal of molecular medicine* 1999;77(8):577-592.

147. Minor T, Klauke H, Isselhard W. Resuscitation of cadaveric livers from non-heart-beating donors after warm ischemic insult: a novel technique tested in the rat. *Experientia* 1996;52(7):661-664.
148. Jain S, Xu H, Duncan H, et al. Ex-vivo study of flow dynamics and endothelial cell structure during extended hypothermic machine perfusion preservation of livers. *Cryobiology* 2004;48(3):322-332.
149. Xu H, Lee CY, Clemens MG, et al. Prolonged hypothermic machine perfusion preserves hepatocellular function but potentiates endothelial cell dysfunction in rat livers. *Transplantation* 2004;77(11):1676-1682.
150. Horpacsy G, Scholz D, Althaus P, et al. Clinical experiences in the Gambro-preservation unit: analysis of 101 human cadaver kidneys. *Eur Surg Res* 1979;11(1):50-60.
151. Jeevanandam V. Improving donor organ function-cold to warm preservation. *World J Surg* 2010;34(4):628-631.
152. Jacobs S, Rega F, Meyns B. Current preservation technology and future prospects of thoracic organs. Part 2: heart. *Current opinion in organ transplantation* 2010;15(2):156-159.
153. Bericht zur Situation der Transplantationsmedizin zehn Jahre nach Inkrafttreten des TPG: IGES-Institut; 2009.
154. Bundesärztekammer. Mitteilung: Organentnahme nach Herzstillstand; 1998.
155. St Peter SD, Imber CJ, Lopez I, et al. Extended preservation of non-heart-beating donor livers with normothermic machine perfusion. *Br J Surg* 2002;89(5):609-616.
156. Cameron AM, Ghobrial RM, Yersiz H, et al. Optimal utilization of donor grafts with extended criteria: a single-center experience in over 1000 liver transplants. *Ann Surg* 2006;243(6):748-753; discussion 753-745.

IV. Abkürzungsverzeichnis

ALT	A lanin- A minotransferase
ALV	A kutes L eberversagen
aPTT	aktivierte p artielle T hromboplastintime
AST	A spartat- A minotransferase
ATP	A denosin t riphosphat
BÄK	B undesärz t ekammer
CLV	C hronisches L eberversagen
CTP	C hild- T urcotte- P ugh
DSO	D eutsche S tiftung O rgan t ransplantation
ET	E urotransplant
GLDH	G lutamat- D ehydrogenasen
Hb	H ämoglobin
HBD	H ear t beating d onar
HBOC	H emoglobin B ased O xygen C arriers
HCC	H epatozelluläres K arzinom
HTK	H istidin- T ryptophan- K etoglutarat
INR	I nternational n ormalized r atio
IRI	ischemia/reperfuion i njury
IVC	infrahepatic v ena c ave
LDH	L aktat- D ehydrogenase
LDLT	L iving d onar l iver t ransplants
LTx	L eber t ransplantation
MELD	M odel of E nd- S tage L iver D iseases
MP	M aschinen p erfusion
MPS	m achine- p erfusion- s olution
(O-MPS, B-MPS, H-MPS)	(O xyglobin-, B elzer-, H TK- m achine- p erfusion- s olution)
NHBD	N on- h ear t beating d onar
PELD	P ediatric E nd- S tage L iver D iseases
PV	p ortal v ein
ROS	R eactive o xygen s pecies
SCS	S tatic c old s torage
SVC	suprahepatic v ena c ave
TPG	T ransplantations g esetz
UNOS	U nited N etwork for O rgan S haring
UW	U niversity of W isconsin solution

V. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Paul Gaß, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **Der Einfluss der aeroben Maschinenperfusion an marginalen Spenderorganen nach orthotroper Lebertransplantation am Rattenmodell** selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift
(Paul Gaß)

Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Paul Gaß hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Olschewski P, **Gass P**, Ariyakhagorn V et al, The influence of storage temperature during machine perfusion on preservation quality of marginal donor livers, Cryobiology, 2010

Beitrag im Einzelnen: teilweise Ausführung der tierexperimentellen Operationen

Publikation 2: Olschewski P, **Gass P**, Schmitz V. et al, Hemoglobin based oxygen carriers for machine preservation livers at 21°C, Transplant International, 2010 (nur als Abstract)

Beitrag im Einzelnen: teilweise Ausführung der tierexperimentellen Operationen

Datum

Unterschrift und Stempel
(Prof. Dr. med. Gero Puhl)

Unterschrift
(Paul Gaß)

VI. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

VII. Publikationen

- The influence of storage temperature during machine perfusion on preservation quality of marginal donor livers. Olschewski P, **Gass P**, Ariyakhagorn V et al. Cryobiology 2010
- Hemoglobin based oxygen carriers for machine preservation livers at 21°C. Olschewski P, **Gass P**, Schmitz V. et al. Transplant International 2010 (nur als Abstract)

VIII. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Promotionsbetreuer Herrn Dr. med. Peter Olschewski. Er hat mich dazu gebracht über die Schwierigkeiten einer experimentellen Arbeit insbesondere im Tiermodell nachzudenken und Lösungen dieser zu erarbeiten. Er war für mich immer erreichbar.

Ebenso stand mir Herr Dietrich Polenz mit viel Rat und Tat beiseite.

Ich möchte auch Herrn Prof. Dr. med. Gero Puhl für seine Hilfe und Engagement danken.

Des Weiteren wäre diese Arbeit ohne das Team in der Tierhaltung nicht möglich gewesen. An dieser Stelle möchte ich ebenfalls folgenden Personen meinen Dank ausrichten: Herr Leonhard (Tierpfleger), Frau Dr. med. vet. Claudia Fehrenberg (Tierschutzbeauftragte) und Frau Dr. rer. nat. Kerstin Jasse (Mitarbeiterin der AG Puhl).

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meiner Ehefrau Claudia Gaß für die Geduld und das Verständnis für meine Arbeit bedanken. Ohne dich hätte ich das niemals geschafft.

Erlangen, den 01.01.2014