

Aus der Klinik  
für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie  
Campus Virchow-Klinikum  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Mikrozirkulation des humanen Pankreas in der frühen Reperfusion  
nach Pankreastransplantation und ihre Bedeutung für die exokrine und  
endokrine Organfunktion

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Katrin Köhler  
aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. K.-D. Schaser

2. Prof. Dr. med. U. Settmacher

3. Priv.- Doz. Dr. med. G. Gradl

Datum der Promotion: 01. Juni 2008

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Die kombinierte Pankreas-Nieren-Transplantation in der Therapie des Diabetes mellitus Typ I .....	1
1.2	Die Transplantatpankreatitis als wichtige Komplikation nach Transplantation .....	2
1.2.1	Morphologie der Transplantatpankreatitis .....	2
1.2.2	Pathogenese der Transplantatpankreatitis .....	3
1.3	Transplantationsinduzierte Mikrozirkulationsstörungen.....	4
1.3.1	„No-Reflow“-Phänomen .....	4
1.3.2	„Reflow-Paradox“-Phänomen .....	5
1.4	Bisherige Methoden zur Bestimmung der mikrovaskulären Perfusion des Pankreas .....	6
1.4.1	Verfahren zur nicht-bildgebenden Darstellung der Pankreasperfusion .....	6
1.4.2	Methoden zur Visualisierung mikrovaskulärer Perfusion.....	7
1.4.3	Die Intravitalmikroskopie als Verfahren zur direkten Visualisierung der Mikrozirkulation.....	8
1.5	Orthogonal Polarization Spectral Imaging als neue Methode zur direkten Visualisierung und quantitativen Analyse der Mikrozirkulation .....	10
2	Fragestellung .....	12
3	Patienten und Methoden.....	14
3.1	Patienten .....	14
3.1.1	Übersicht über Patientengruppen .....	14
3.1.2	Die Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe – Eigenschaften und Einschlusskriterien .....	14
3.1.3	Die Kontrollgruppe – Eigenschaften und Einschlusskriterien .....	15
3.2	Orthogonale Reflexspektrophotometrie – Orthogonal Polarization Spectral (OPS) Imaging.....	15
3.3	Operationstechnik, intraoperatives Orthogonal Polarization Spectral Imaging und postoperative Organfunktion.....	18
3.3.1	Operationstechnik.....	18

3.3.1.1	Allgemeine Angaben zur Anästhesie .....	18
3.3.1.2	Pankreas-Donor-Operation und Transplantateigenschaften.....	18
3.3.1.3	Pankreas-Empfänger-Operation .....	19
3.3.2	Intraoperative Messungen mittels Orthogonal Polarization Spectral Imaging ..	20
3.3.2.1	Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe .....	20
3.3.2.2	Kontrollgruppe .....	21
3.3.3	Postoperative quantitative Analyse mikrozirkulatorischer Parameter .....	21
3.3.3.1	Kapillarer Durchmesser.....	22
3.3.3.2	Funktionelle Kapillardichte.....	22
3.3.3.3	Erythrozytenflussgeschwindigkeit .....	23
3.3.3.4	Volumetrischer kapillarer Blutfluss .....	23
3.3.3.5	Perfusionsindex .....	24
3.3.3.6	Heterogenitätsindex der funktionellen Kapillardichte .....	24
3.3.4	Erfassung laborchemischer Parameter .....	24
3.3.4.1	Enzymaktivitäten von Serum-Lipase und -Amylase.....	25
3.3.4.2	Serum-CRP und Leukozytenzahl im Blut.....	25
3.3.4.3	Hämatokritgehalt des Blutes .....	25
3.3.4.4	C-Peptid und Glucose-Konzentration .....	25
3.4	Statistische Auswertung .....	26
4	Ergebnisse .....	28
4.1	Charakterisierung der Patientengruppen .....	28
4.1.1	Eigenschaften der Organspenderpatienten .....	28
4.1.2	Eigenschaften der Patienten in der Kontrollgruppe .....	29
4.1.3	Eigenschaften der Patienten in der Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe ..	30
4.2	Orthogonal Polarization Spectral Imaging .....	31
4.3	Die Mikrozirkulation des Pankreas .....	31
4.3.1	Die Mikrozirkulation des Pankreas der Kontrollpatienten.....	32
4.3.2	Die Mikrozirkulationsstörung des Pankreas in der frühen Reperfusionphase nach Transplantation .....	32
4.4	Postoperativer Verlauf der laborchemischen Parameter in der Pankreas-Nieren- Transplantationsgruppe .....	34
4.4.1	Exokrine Organfunktion: Lipase- und Amylaseaktivität im Serum.....	34
4.4.2	Entzündungsparameter: CRP-Konzentration und Leukozytenzahl.....	35

4.4.3	Endokrine Organfunktion: C-Peptid- und Glucosekonzentrationen im Serum .....	36
4.4.4	Hämatokrit.....	37
4.5	Korrelation von mikrozirkulatorischen und laborchemischen Parametern der Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe .....	37
4.5.1	Mikrovaskuläre Parameter nach Reperfusion und exokrine Enzymaktivitäten.....	38
4.5.2	Mikrovaskuläre Parameter nach Reperfusion und Entzündungsparameter .....	41
4.5.3	Mikrovaskuläre Parameter nach Reperfusion und C-Peptidkonzentration .....	44
5	Diskussion .....	46
5.1	Visualisierung und Analyse der Mikrozirkulation des Pankreas gesunder Individuen mittels Orthogonal Polarization Spectral Imaging .....	46
5.2	Mikrovaskuläre Störungen in der frühen Reperfusionsperiode nach Pankreastransplantation.....	48
5.3	Mikrovaskuläre Dysfunktion und Auswirkungen auf die exokrine Organfunktion nach Transplantation.....	53
5.4	Mikrovaskuläre Dysfunktion und Auswirkungen auf die endokrine Organfunktion nach Transplantation .....	56
6	Zusammenfassung.....	59
7	Literaturverzeichnis.....	61
8	Abkürzungsverzeichnis .....	72
	Danksagung.....	73
	Lebenslauf .....	74

# 1 Einleitung

## 1.1 Die kombinierte Pankreas-Nieren-Transplantation in der Therapie des Diabetes mellitus Typ I

Die Pankreastransplantation hat sich innerhalb der letzten Jahre seit der ersten klinisch erfolgreichen Durchführung im Jahr 1966 an der University of Minnesota<sup>1</sup> zu einem allgemein akzeptierten Verfahren in der Therapie des Diabetes mellitus Typ I, insbesondere bei zusätzlichem Vorliegen einer diabetischen Nephropathie mit präterminaler oder terminaler Niereninsuffizienz, entwickelt. Sie ist nach wie vor die einzige etablierte kausale Behandlungsmethode des Diabetes mellitus. Durch Wiederherstellung der endogenen Insulinsekretion mit Abhängigkeit von physiologischen Rückkopplungsmechanismen führt sie auch langfristig zu einer Normalisierung des Glucosestoffwechsels, d. h. einer permanenten Normoglykämie mit Insulinunabhängigkeit. Dadurch wird eine Prävention bzw. Stabilisierung und optimalerweise auch eine Rückbildung von diabetesassoziierten Erkrankungen mit deutlicher Steigerung des Langzeitüberlebens der betroffenen Patienten erreicht<sup>2-4</sup>. Aufgrund der empfundenen erheblichen Verbesserung der Lebensqualität werden die perioperativen Risiken und eine lebenslang notwendige Immunsuppressionstherapie in Kauf genommen<sup>2-4</sup>. Meistens erfolgt die Transplantation des Pankreas in Kombination mit einer Nierentransplantation als einzeitiges Verfahren (simultane Pankreas-Nieren-Transplantation, PNTx). Die Ergebnisse haben sich in den letzten Jahrzehnten infolge optimierter Operationstechniken und neuer immunsuppressiver Medikamente immer weiter verbessert. So lag die in den Jahren 1996 bis 2002 bestimmte 1-Jahres-Überlebensrate der Empfänger laut Feststellung des International Pancreas Transplant Registry bei über 94 %, die 1-Jahres-Funktionsrate des Transplantats (erfasst wurden alle Transplantate mit kompletter Insulinunabhängigkeit des Empfängers) bei 80-85 %<sup>5,6</sup>. Der funktionelle Organverlust im ersten Jahr nach Transplantation kann einerseits durch akute immunologische Abstoßungsvorgänge bedingt sein, andererseits durch so genanntes technisches Transplantatversagen. Dieses ist nach wie vor mit höheren Raten behaftet als nach Transplantation anderer Organe. Es umfasst Komplikationen, die Folge der Operation und/oder Organkonservierung sind: Thrombose des Pankreas, Transplantatpankreatitis, (peri)pankreatische Infektionen, weiterhin Anostomoseninsuffizienzen oder Blutungen<sup>5,6</sup>. Die 10-Jahres-Funktion eines erfolgreich transplantierten Pankreas liegt laut ersten Langzeitstudien

bei bis zu 67 %, die 10-Jahres-Überlebensrate der Empfänger bei bis zu 77 %. Die Langzeitergebnisse der simultanen Pankreas-Nieren-Transplantation sind somit vergleichsweise sehr gut <sup>4,7</sup>.

## **1.2 Die Transplantatpankreatitis als wichtige Komplikation nach Transplantation**

Die Transplantatpankreatitis ist eine der häufigsten Komplikationen in den ersten Tagen nach Pankreastransplantation <sup>8</sup>. Sie tritt bei einem Großteil aller Empfänger (17 bis 88 %) in milder Form auf <sup>9,10</sup>, zeigt dann aber zum Teil schwere Verläufe. Letztere führen bei 5-10 % der betroffenen Patienten durch die sich entwickelnde exo- und endokrine Dysfunktion zum Organverlust sowie durch lokale und systemische Auswirkungen zu einer deutlichen Erhöhung der Morbidität und Mortalität <sup>11,12</sup>.

### **1.2.1 Morphologie der Transplantatpankreatitis**

Ergebnisse licht- und elektronenmikroskopischer Untersuchungen am Pankreas während und nach Transplantation bzw. Ischämie und Reperfusion zeigen in der späten Ischämiephase nur leichte morphologische Veränderungen des Organs in Form eines geringgradigen Ödems des interlobulären und –azinären Bindegewebes. Deutlich sichtbar werden sie aber dann in den ersten Minuten bis Stunden nach Reperfusionbeginn. In dieser Phase kommt es zur zunehmenden Entwicklung eines intra- und extrazellulären Ödems, massiver Infiltration polymorphkerniger Leukozyten und Störung der für die Zellintegrität notwendigen Kompartimentierung. Daraus resultieren die Aktivierung des lysosomalen Systems bis hin zu Fibrinablagerungen, fokalen Hämorrhagien und azinären Nekrosen des Gewebes. Diese morphologischen Veränderungen entsprechen weitgehend denen einer Pankreatitis mit nicht transplantationsbedingter Ätiologie <sup>10,13-15</sup>.

### 1.2.2 Pathogenese der Transplantatpankreatitis

Die genaue Pathogenese der Transplantatpankreatitis ist nach wie vor nicht vollständig bekannt. Aufgrund des sofortigen Einsetzens der morphologischen Veränderungen mit Beginn der Reperfusion kann sie nicht Folge einer immunologisch bedingten Reaktion des Empfängerorganismus sein, da deren Entwicklung nach Fremdartigenkontakt eine längere Zeitspanne benötigen würde. So konnte selbst in allogenen Transplantationsstudien in Ratten, die keine Immunsuppression zum Operationszeitpunkt erhielten, eine histologisch nachweisbare beginnende Abstoßungsreaktion erst am dritten Tag nach Transplantation beobachtet werden<sup>16</sup>. Diese zeichnet sich dann durch eine massive Infiltration mononukleärer Lymphozyten in das exokrine Pankreasgewebe aus<sup>16-18</sup> und unterscheidet sich somit auch morphologisch von der beschriebenen Transplantatpankreatitis. Zudem traten histologische Veränderungen im Sinne einer Pankreatitis in den ersten Stunden nach Reperfusion auch in tierexperimentellen Transplantationsstudien auf, in denen die Wahrscheinlichkeit einer immunologischen Interaktion von Empfängerorganismus und Transplantat durch Syngenetät von Spender- und Empfängertieren deutlich gesenkt wurde<sup>19</sup>.

Bei der Suche nach der Ursache der Transplantatpankreatitis müssen verschiedene andere Faktoren berücksichtigt werden. Dazu gehören neben Spendereigenschaften, Konservierungsmethoden und Qualität des Organs, Operationstechniken und postoperativem Patientenmanagement<sup>11,12</sup> insbesondere die ischämie- und reperfusionsbedingte Gewebeschädigung des Transplantats<sup>11,15,20,21</sup>. Warshaw und Mitarbeiter lieferten klinische Hinweise für die hohe Empfindlichkeit des Pankreas gegenüber einer ischämischen Schädigung. Sie zeigten in Autopsien, dass ein Großteil von Patienten, die an einem oligämischen Schock gestorben waren, neben den schocktypischen akuten tubulären Nekrosen der Niere auch Anzeichen einer deutlichen pankreatischen Schädigung aufwiesen<sup>22</sup>. Inzwischen wurde in einer Reihe von Studien die Wichtigkeit der Länge der Ischämiezeit für die Entstehung einer Pankreatitis und deren Ausmaß wiederholt hervorgehoben<sup>20,23-25</sup>. Alle typischen morphologischen Pankreatitiszeichen entwickeln sich aber hauptsächlich mit Beginn der Reperfusion, was deutlich auf deren kausale Rolle in der Induktion und Manifestation der Gewebeschädigung hinweist<sup>10,13,26</sup>. Eine tief greifend gestörte Mikrozirkulation mit Versagen der nutritiven kapillaren Perfusion des Organs wird dabei als der entscheidende Triggermechanismus betrachtet<sup>14,23,25,27-29</sup>. Unabhängig von der Ursache wird auch das Ausmaß des Parenchymschadens und damit eine Progression von milden zu schweren, d. h.

hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitisformen durch eine reduzierte mikrovaskuläre Perfusion im Gewebe mitbedingt<sup>30-35</sup>.

### **1.3 Transplantationsinduzierte Mikrozirkulationsstörungen**

In den letzten Jahren haben Studien in Tiermodellen das Verständnis von Physiologie und Pathophysiologie der Mikrozirkulation und auch das Wissen über die aus Transplantation resultierenden zellulären und mikrovaskulären Veränderungen des Pankreas und anderer Organe<sup>27,36-38</sup> deutlich erweitert. Es wurde gezeigt, dass längere Perioden von Ischämie, gefolgt von Reperfusion und Reoxygenierung, zu zwei charakteristischen mikrovaskulären Phänomenen führen, dem kapillaren „No-Reflow“<sup>39</sup> und dem „Reflow-Paradox“<sup>40</sup>.

#### **1.3.1 „No-Reflow“-Phänomen**

Der No-Reflow (primäres kapillares Perfusionsversagen) ist durch einen, mit Einsetzen der Reperfusion manifesten, gestörten oder völlig ausbleibenden Blutfluss einzelner Kapillaren gekennzeichnet. Daraus resultieren die Abnahme der funktionellen Kapillardichte und eine gesteigerte Heterogenität des nutritiven Blutflusses und damit der Verlängerung der fokalen Gewebhypoxie<sup>14,39</sup>. Verschiedene mechanische, morphologische und rheologische Mechanismen werden als Ursache für das „No-Reflow“-Phänomen diskutiert, wobei über deren Entstehung bisher wenig bekannt ist. Zu diesen gehören u. a. Endothelzellschwellung<sup>41-43</sup>, intravaskuläre Hämokonzentration mit Störung der Blutfluidität<sup>13,41,43</sup> und ein erhöhter, durch interstitielles Ödem verursachter Gewebedruck mit resultierender extravaskulärer Kompression von Kapillaren<sup>41,44</sup>. Weiterhin werden endotheliale Leukozytenadhärenz<sup>45</sup>, intrakapillare Thrombusbildung<sup>42,46</sup>, sowie eine Dysbalance von Stickstoffmonoxid (NO) und Endothelinen bzw. anderen freiwerdenden Substanzen mit vasoaktiver Wirkung<sup>47-51</sup> als kausale Faktoren angesehen.

### 1.3.2 „Reflow-Paradox“-Phänomen

Im Gegensatz zum „No-Reflow“ erfordert die Manifestation des „Reflow-Paradoxes“ (sekundäres kapillares Perfusionsversagen) zunächst die Wiederherstellung der mikrovaskulären Durchblutung mit Reoxygenierung des Gewebes nach Einsetzen der Reperfusion<sup>14,26,40</sup>. Dies bedingt dann die Produktion reaktiver Sauerstoffradikale, welche wiederum Leukozyten aktivieren und deren Endotheladhäsion vor allem in postkapillaren Venolen fördern<sup>40,52-56</sup>. Daraus resultiert letztendlich ein Verlust der Endothelzellintegrität mit Zunahme der vaskulären Permeabilität, Extravasation von Makromolekülen und interstitieller Ödembildung. Parenchymzellschädigend wirken neben zytotoxischen Sauerstoffradikalen<sup>40,52,53,55,56</sup> auch eine Reihe weiterer inflammatorischer Mediatoren, welche aus aktivierten Leukozyten, Endothelzellen, zirkulierenden und gewebeständigen Makrophagen und wahrscheinlich auch Thrombozyten<sup>36,57</sup> und Parenchymzellen selbst<sup>36</sup> freigesetzt werden. So sind an der Manifestation des postischämischen Reflow-Paradoxes unter anderem die nach Aktivierung der Phospholipase A<sub>2</sub> aus Zellmembranlipiden gebildeten Arachidonsäurederivate (Prostaglandine,<sup>58,59</sup> Leukotriene<sup>37,59</sup> und Thromboxane<sup>58,60,61</sup>) und weiterhin der Plättchen aktivierende Faktor (PAF)<sup>60,62</sup>, Interleukin-1<sup>27</sup>, TNF-alpha<sup>27</sup> und Komplementfaktoren<sup>63</sup> beteiligt. Außerdem scheinen auch den Vasotonus beeinflussende Systeme, wie das Kallikrein-Kinin-System<sup>50,51</sup> und das oben bereits erwähnte Zusammenspiel von Stickstoffmonoxid (NO) und Endothelinen<sup>48,64</sup>, neben ihrer Rolle im No-Reflow auch von Bedeutung für die Entstehung des paradoxen sekundären kapillaren Versagens zu sein. Besonders der Einfluss von NO wird hierbei kontrovers diskutiert. Es kann über eine Vasodilatation zwar perfusionsverbessernd wirken, weist aber in hohen Konzentrationen und insbesondere in Kombination mit Sauerstoffradikalen selbst zytotoxische Effekte auf. Dementsprechend zeigte NO in verschiedenen Studien einerseits protektive andererseits aber auch schädliche Effekte auf die durch Ischämie und Reperfusion induzierte Gewebeschädigung<sup>47,49,65-68</sup>. Prinzipiell gilt, dass die genannten Mediatoren über ihre jeweiligen vasoaktiven, chemotaktischen und zellaktivierenden Wirkungen und über eine Expressionsauslösung von spezifischen Oberflächenadhäsionsmolekülen (Leukozyten- und Endothel-Selektine,  $\beta_2$ -Integrine, ICAM-1)<sup>19,69</sup> die mikrovaskuläre Dysfunktion und Leukozyten-Endothel-Interaktion und -Adhäsion potenzieren. Darauf folgt dann die Emigration der weißen Blutkörperchen aus den Gefäßen in das Organparenchym als typisches histologisches Zeichen einer in Gang befindlichen akuten inflammatorischen Reaktion.

No-Reflow und Reflow-Paradox resultieren so in einem Circulus vitiosus, der über eine gestörte Mikrozirkulation und Entzündungsreaktion zur Schädigung und zum Untergang von Parenchymanteilen bis hin zum Organversagen führen kann<sup>27</sup>. Trotz aller bisher gewonnenen Erkenntnisse sind die genauen pathogenetischen Mechanismen der durch Ischämie und Reperfusion induzierten Schädigung von Mikrozirkulation und Gewebe des Pankreas in ihrem Zusammenspiel nach wie vor nicht komplett bekannt. Sie bedürfen daher weiterer Untersuchungen.

## **1.4 Bisherige Methoden zur Bestimmung der mikrovaskulären Perfusion des Pankreas**

Veränderungen von Blutfluss und Mikrozirkulation des Pankreas sind primäre Manifestationsarten von Krankheitsprozessen in diesem Organ. Daher wurde eine große Zahl meist tierexperimenteller Untersuchungen mit den Zielen durchgeführt, die Charakteristika der physiologischen Mikroangioarchitektur des Pankreas, den pankreatischen Blutfluss und mikrozirkulatorische Prozesse infolge pathologischer Veränderungen zu bestimmen. Dabei wurden diverse, entweder nicht-bildgebende oder die Mikrozirkulation direkt visualisierende Techniken angewandt.

### **1.4.1 Verfahren zur nicht-bildgebenden Darstellung der Pankreasperfusion**

Bei den nicht-bildgebenden Untersuchungsmethoden kann man solche, die den das Organ bzw. Organanteile versorgenden Gesamtblutfluss darstellen, von anderen unterscheiden, die Aussagen über die qualitative oder quantitative Perfusion im Parenchym zulassen.

Zu den Ersteren gehören frühe Methoden, wie die Plethysmographie<sup>70</sup> zur Bestimmung von Blutflussveränderungen durch Quantifizierung von Volumenschwankungen des Organs oder die Strohmuhr<sup>71</sup>, mit der durch Messung der Zeit, in welcher eine Kammer bekannten Volumens mit Blut gefüllt wird, der Fluss berechnet werden konnte. In späteren Studien wurden dann andere Verfahren verwendet, z. B. die quantitative Erfassung des venösen Ausflusses aus

Organen <sup>72</sup> oder kontinuierliche Messungen mit an versorgenden Gefäßen befestigten elektromagnetischen Sonden <sup>73,74</sup> (Spannungsmessung eines elektrischen Feldes, welches in Folge von Flüssigkeitsbewegungen durch ein magnetisches Feld erzeugt wird und dessen Spannung proportional zur Flussgeschwindigkeit ist). Die Anwendung dieser Verfahren zur Bestimmung des Gesamtblutflusses ist aber gerade am Pankreas aufgrund der komplexen Blutversorgung des Organs über mehrere zu- und abführende Gefäße mit deutlichen individuellen Unterschieden problematisch. Zusätzlich werden bei den Messungen auch arteriovenöse Shuntflüsse <sup>75</sup> miterfasst, die nicht zur nutritiven Versorgung des Gewebes beitragen.

Als weitere Methode dient die Laser-Doppler-Flussmessung der kontinuierlichen Bestimmung relativer Änderungen der Gewebepfusion in einem festgelegten Gewebevolumen <sup>76</sup>. Auch durch Injektion radioaktiv markierter Mikrosphären mit nachfolgender Erfassung der Aktivität im Gewebe <sup>77,78</sup> oder durch Clearance-Untersuchungen verschiedener inerter Gase u.a. Wasserstoff <sup>79</sup> oder Xenon-133 <sup>80</sup> (diese diffundieren frei ins Organparenchym, unterliegen keiner Metabolisierung und werden vom Gewebe mit einer Geschwindigkeit wieder abgegeben, die von dessen Perfusionszustand abhängig ist) gelingt die Erfassung der quantitativen Perfusion im Pankreasparenchym.

Im Gegensatz zu den bisher genannten Verfahren mit der Möglichkeit der Quantifizierung erlaubt die Messung von Sauerstoffpartialdrücken im Gewebe Rückschlüsse auf die Qualität der nutritiven Perfusion. So erfassen Reflexionsspektrophotometrie <sup>34,35</sup> und kontinuierliche Gewebeoxymetrie <sup>28</sup> auch über längere Zeiträume Oxygenierungszustände des mikrovaskulären Hämoglobins bzw. von Parenchymarealen.

Laser-Doppler-Flussmessung, kontinuierliche Gewebeoxymetrie <sup>81,82</sup> und auch H<sub>2</sub>-Clearance-Messungen <sup>83</sup> fanden trotz teilweise notwendiger invasiver Sondenimplantation bereits unter klinischen Gegebenheiten am humanen Pankreas Anwendung.

Von Nachteil bei allen erwähnten Methoden ist allerdings die nur indirekte Information über die mikrozirkulatorische Situation, da eine Visualisierung der azinären Perfusion nicht möglich ist.

#### **1.4.2 Methoden zur Visualisierung mikrovaskulärer Perfusion**

Den Grundstein für die visuelle Darstellung der Mikrozirkulation legte Marcello Malpighi bereits im Jahr 1661, in welchem er in seinen Beobachtungen an der Lunge von Hunden und nachfolgend von Fröschen erstmalig die Existenz des Kapillarnetzes als verbindendem Segment

zwischen Arterien und Venen beschrieb<sup>84</sup>. Diesem folgten dann im Laufe der Zeit auch dank der zunehmenden Verbesserung der Mikroskopietechniken weitere Beobachtungen zu Histologie und statischer Kondition der Mikrogefäßarchitektur von Organen, darunter auch des Pankreas. So wurden und werden bis heute verschiedene Formen von Licht- und Elektronenmikroskopie zur Untersuchung von Präparaten post mortem angewendet<sup>15,85</sup>. Dabei wurden zur besseren Darstellung der Gefäße und ihres Verteilungsmusters in Gewebeproben Farbstoffe wie Methylene-Blau oder India-Ink<sup>86</sup> oder andere Kontrastmedien<sup>87</sup> zur Mikroangiographie intraarteriell injiziert. Neben diesen statischen Untersuchungsmethoden hat vor allem die Intravitalmikroskopie durch die Möglichkeit der Anwendung am lebenden Organismus stark zum Verständnis der Mikrozirkulation von Organen und insbesondere von physiologischen und pathophysiologischen Mechanismen auf mikrovaskulärer Ebene beigetragen.

### **1.4.3 Die Intravitalmikroskopie als Verfahren zur direkten Visualisierung der Mikrozirkulation**

Die Intravitalmikroskopie als Goldstandard der Mikrozirkulationsuntersuchung war die bisher einzige Methode, die die direkte Visualisierung mikrovaskulärer Perfusion am lebenden Organismus ermöglichte. Es gelingt mit dieser Technik, das kapillare Netzwerk mit dazugehörigen Arteriolen und Venolen, sich in diesem befindliche Zellen und deren Interaktionen untereinander und mit dem Endothel der Gefäßwände in vivo darzustellen<sup>27</sup>. Anwendungsmöglichkeiten führen bis hin zu simultanen Studien mikrovaskulärer, molekularer und zellulärer Mechanismen und Funktionen bei Vorgängen wie Inflammation und Sepsis, Transplantation, Schock, Angiogenese und Vaskularisierung von Geweben und Tumoren in fast allen Organen, z. B. Herz, Leber, Darm, Haut, Periost, Muskel- oder Nervengewebe<sup>88</sup>.

Erste Berichte über die Intravitalmikroskopie zur Darstellung nutritiver Perfusion und Zell-Zell-Interaktionen liegen bereits aus dem Jahr 1839 in den „Erläuterungstafeln zur Physiologie und Entwicklungsgeschichte“ von R. Wagner vor<sup>88</sup>. Es folgten 1846 Augustus Wallers Beobachtungen in der gedehnten Zunge lebender Frösche über Erythrozyten („flattened disks“) und Leukozyten („colorless spherical globules“) im Blut, sowie die Beschreibung der Extravasation der letzteren zur Bildung von Eiter. Er war damit wahrscheinlich der Erste, der die Diapedese von Entzündungszellen als grundlegenden Mechanismus inflammatorischer Reaktionen dokumentierte<sup>89</sup>. Bald wurde dann auch mit Versuchen begonnen, den

mikrovaskulären Fluss nicht nur deskriptiv darzustellen, sondern auch quantitativ zu erfassen. So bestimmte Basler im Jahre 1919 die Blutflussgeschwindigkeit in Nagelfalzkapillaren des Menschen, indem er die Bewegung von Erythrozyten und einem aus drei Haaren geflochtenen Zopf, der mit verschiedenen einstellbaren bekannten Geschwindigkeiten mittels eines Uhrwerkes gleichmäßig durch das Okular des Mikroskops gezogen werden konnte, verglich <sup>90</sup>. Zur besseren Darstellung von Kapillaren kamen ab den 30er Jahren des 20. Jahrhunderts dann auch Fluoreszenzfarbstoffe z. B. in Studien an Kaulquappenflossen zum Einsatz <sup>91</sup>. Die zu untersuchenden Gewebe wurden in diesen ersten Versuchen so gewählt, dass mikrovaskuläre Strukturen im durchfallenden Licht zu erkennen waren (Durchlichtmikroskopie). Studien an soliden Organen waren mit dieser Transilluminationstechnik in der Regel nicht möglich, sodass viele intravitalmikroskopische Untersuchungen zu verschiedensten Fragestellungen häufig am wegen seiner Lichtdurchlässigkeit gut geeigneten Duodenalmesenterium im Nagermodell <sup>92</sup> durchgeführt wurden. Dieses Modell ermöglichte auch erste qualitative Beschreibungen der Mikrozirkulation des Pankreas in vivo unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen, da das Mesenterium insbesondere des Kaninchens Teile des Pankreas in Form einzelner zarter Läppchen enthält <sup>92</sup>. Die Bedeutung der Intravitalmikroskopie für die Erforschung von Krankheitsmechanismen erkannte man aber endgültig erst im Verlauf der letzten 30 Jahre <sup>88</sup>. Ein zunehmendes Verständnis der Mikrozirkulation von Organen und ihrer Veränderungen als Antwort auf patho(physio)logische Vorgänge war dabei mit einer Ausreifung dieser Untersuchungstechnik verbunden. So erfolgte die Weiterentwicklung von der Trans- zur Epiillumination mit der Möglichkeit, auch kompakte nichttransparente Organe untersuchen zu können <sup>15</sup> und der Einsatz verbesserter Fluoreszenzfarbstoffe zur Darstellung von Blutplasma und -zellen. Als Meilenstein kann auch die Einführung von computergestützten Offline-Bildanalyse-Systemen <sup>93</sup> angesehen werden. Diese ermöglichen die quantitative Analyse einzelner Parameter, z. B. der funktionellen Kapillardichte, der Erythrozytenflussgeschwindigkeit oder der Gefäßpermeabilitätserhöhung für Makromoleküle durch Videoauswertung im Anschluss an das Experiment. Diesen Fortschritten in der Anwendung der Intravitalfluoreszenzmikroskopie verdanken wir auch die meisten bisher bekannten, tierexperimentell gewonnenen Daten pankreatischer Mikrozirkulation und ihrer Pathologie <sup>14,25,30-32,47,94</sup>.

Der Einsatz der Technik an humanen Organen bleibt aber wegen der Größe des erforderlichen Instrumentariums und der Notwendigkeit der Gabe von Fluoreszenzfarbstoffen zur Kontrastverstärkung mit der Gefahr der Entwicklung von farbstoffassoziierten phototoxischen Reaktionen <sup>95</sup> auf Untersuchungen oberflächlicher Gewebe, wie der Haut (Kapillaroskopie) <sup>96</sup>, beschränkt.

## **1.5 Orthogonal Polarization Spectral Imaging als neue Methode zur direkten Visualisierung und quantitativen Analyse der Mikrozirkulation**

Die orthogonale Reflexspektrophotometrie, das sogenannte OPS (orthogonal polarization spectral) imaging, ist eine von Groner et al. 1999 zum ersten Mal beschriebene Technik zur nicht-invasiven intravitalen Visualisierung mikrovaskulärer Strukturen solider Organe<sup>97</sup>.

Ursprünglich wurde die Methode mit dem Ziel entwickelt, unter Verwendung von Spektrophotometrie eine komplette Blutbildbestimmung mit Hämatokrit-, Hämoglobin- und Leukozytenzahl nachweis ohne die Notwendigkeit der invasiven Blutentnahme zu ermöglichen<sup>97,98</sup>.

Zur intravitalen Mikrozirkulationsdarstellung mittels OPS imaging wird das zu untersuchende Gewebe mit linear polarisiertem Licht mit einer Eindringtiefe von 200-500 µm auf einer Fläche von ungefähr 1 mm<sup>3</sup> beleuchtet. Die Wellenlänge des Lichts liegt bei 548 nm und damit so im Absorptionsspektrum des Hämoglobins, dass dieses sowohl in der desoxygenierten als auch der oxygenierten Form zur Darstellung kommt. Durch den Einsatz von zwei orthogonal zueinander angeordneten Polarisationsfiltern im Strahlenverlauf werden im rückgestrahlten Licht letztendlich Strukturen, die den roten Blutfarbstoff enthalten, sichtbar. Dabei dient der im Hämoglobin absorbierte Lichtanteil der Kontrastgebung, der im Gewebe gestreute hingegen der Hintergrundbeleuchtung des entstehenden Bildes<sup>97</sup>. Die Gabe von Fluoreszenzfarbstoffen ist dabei im Gegensatz zur herkömmlichen Intravitalmikroskopie nicht notwendig. Die so gewonnenen Bilder bieten dann die Möglichkeit der in der Intravitalmikroskopie etablierten postoperativen quantitativen Analyse mittels computergestützter Bildanalyse Systeme<sup>93</sup>.

In verschiedenen Studien wurde die Validität des OPS imaging für Untersuchungen der Mikrozirkulation von soliden Organen und auf Schleimhautoberflächen nachgewiesen<sup>97,99-101</sup>.

So ergab der tierexperimentelle Vergleich mit der Intravitalmikroskopie als Goldstandard der Mikrozirkulationsanalyse übereinstimmende Ergebnisse beider Methoden bei der Messung mikrovaskulärer Parameter, wie Gefäßdurchmesser, Erythrozytenflussgeschwindigkeit oder funktioneller Kapillardichte<sup>97,99,100</sup>. Auch in Studien der Pankreasmikrozirkulation in Ratten wurden statistisch signifikante Korrelationen von mit OPS imaging und mit den üblichen fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen gewonnenen Daten gefunden<sup>102</sup>. Mit OPS imaging ist demnach eine verlässliche Visualisierung der Pankreasmikrozirkulation möglich<sup>102</sup>.

Aufgrund der Notwendigkeit der Gabe von Fluoreszenzfarbstoffen bei intravitalmikroskopischen Untersuchungen blieben Validitätsstudien von OPS imaging an humanen Geweben auf leicht

zugängliche Oberflächen begrenzt. So konnten Mathura et al. beim Vergleich von OPS imaging und der konventionellen Kapillaroskopie der Nagelpfalz korrelierende Ergebnisse bei der Messung von Gefäßdurchmessern und Erythrozytenflussgeschwindigkeit zeigen <sup>101</sup>.

Ein Nachteil des OPS imaging gegenüber der herkömmlichen Intravitalmikroskopie besteht sicherlich darin, dass Strukturen wie Leuko- und Thrombozyten oder Endothelzellen, die kein Hämoglobin enthalten, auch nicht im Einzelnen zur Darstellung kommen <sup>97</sup>. Dafür bietet das Verfahren aufgrund seiner fehlenden Invasivität und der einfachen Handhabung eines kleinen handgeführten Videomikroskops (Cytoscan™) <sup>99</sup>, ein hohes Potential für die detaillierte Analyse mikrovaskulärer Perfusion humaner Organe mit Anwendbarkeit unter klinischen und vor allem intraoperativen Gegebenheiten.

OPS imaging ist jedoch bis jetzt in Studien zur Analyse der Physiologie und Pathophysiologie der humanen Pankreasmikrozirkulation noch nicht zum Einsatz gekommen.

## 2 Fragestellung

Ziele dieser Studie waren:

1. Die Anwendbarkeit der neuen Methode OPS imaging zur intraoperativen Visualisierung und nachfolgenden Quantifizierung der Mikrozirkulation des humanen Pankreas unter klinischen Gegebenheiten zu evaluieren.
2. Erstmals die physiologische humane Pankreasperfusion intravitalmikroskopisch mittels OPS imaging darzustellen und nachfolgend durch Anwendung eines computergestützten Videobildanalyse-Systems zu quantifizieren und zu beschreiben.
3. Die humane Pankreasmikrozirkulation in der frühen Reperfusionphase nach Pankreas-Nieren-Transplantation ebenfalls intravitalmikroskopisch mittels OPS imaging zu visualisieren und nachfolgend zu quantifizieren.
4. Unterschiede zwischen der physiologischen Pankreasperfusion und der Mikrozirkulation in der postischämischen Reperfusionphase nach Pankreas-Nieren-Transplantation zu erfassen und die gewonnenen Daten statistisch zu vergleichen. So sollten Eigenschaften der mikrovaskulären Dysfunktion im Transplantat herausgearbeitet werden.
5. Weiterhin sollte die exo- und endokrine Organfunktion sowie die sich entwickelnde inflammatorische Reaktion in der ersten Woche nach Pankreas-Nieren-Transplantation anhand des Verlaufs verschiedener laborchemischer Parameter dargestellt werden.

6. Funktionelle Zusammenhänge zwischen ischämie-/reperfusioninduzierten Mikrozirkulationsstörungen und Veränderungen der exo- und endokrinen Organfunktion bzw. der Entzündungsreaktion nach Pankreastransplantation sollten identifiziert werden.

Durch statistische Analysen sowie Korrelation der mikrozirkulatorischen und exo-/endokrinen Laborparameter sollte die Relevanz und kausale Bedeutung der mikrovaskulären Dysfunktion während der frühen Reperfusion für eine sich entwickelnde Schädigung des Pankreasgewebes, eine postoperative Organdysfunktion und damit für die Entstehung einer Transplantatpankreatitis untersucht werden.

## **3 Patienten und Methoden**

### **3.1 Patienten**

#### **3.1.1 Übersicht über Patientengruppen**

Nach Genehmigung des Projektes und Erteilung des Votums durch die Ethikkommission der Charité, Campus Virchow Klinikum, wurden in der Studie zwei Patientengruppen in Hinblick auf die Mikrozirkulation des Pankreas untersucht:

Die erste Gruppe bestand aus 13 Patienten, die sich einer simultanen Pankreas-Nieren-Transplantation (PNTx) unterzogen, im Folgenden bezeichnet als PNTx-Gruppe.

Die zweite Gruppe, die Kontrollgruppe, umfasste 6 gesunde Personen, die im Rahmen einer Leberlebendspende intraoperativ untersucht wurden.

Die Patienten beider Gruppen wurden im Zeitraum zwischen August 2000 bis Dezember 2001 in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité, Campus Virchow-Klinikum, Direktor: Prof. Dr. P. Neuhaus, operiert.

#### **3.1.2 Die Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe – Eigenschaften und Einschlusskriterien**

Intraoperativ wurde während simultaner Pankreas-Nieren-Transplantation bei 13 Patienten (m/w : 7/6) im Alter von  $43 \pm 10$  (25 - 58) Jahren die mikrovaskuläre Perfusion des transplantierten Pankreas mittels orthogonaler Reflexspektrophotometrie (OPS imaging) visualisiert, aufgenommen und später quantitativ analysiert.

Die Indikation zur Transplantation wurde bei allen Patienten aufgrund ihrer Grundkrankheit, Diabetes mellitus Typ I (primäre Insulinabhängigkeit vom Zeitpunkt der Diagnosestellung, Dauer der Erkrankung:  $29 \pm 9$  (18 - 49) Jahre) mit präterminaler oder terminaler Niereninsuffizienz, gestellt. Die meisten Patienten zeigten zusätzlich weitere schwere diabetes-assoziierte Komplikationen, wie periphere Polyneuropathie, autonome diabetische Neuropathie,

Retinopathie, diabetisches Fußsyndrom u. a..

Alle Patienten erfüllten vor dem Eingriff die Evaluationskriterien zur Durchführbarkeit einer PNTx und konnten somit in die Studie eingeschlossen werden.

### **3.1.3 Die Kontrollgruppe – Eigenschaften und Einschlusskriterien**

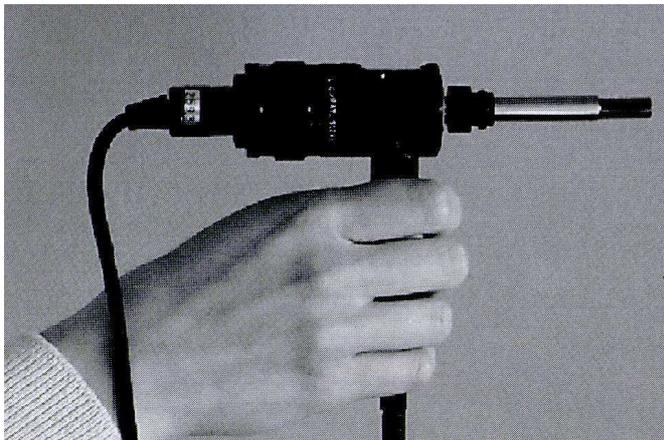
Zur Erfassung der physiologischen Mikrozirkulationsverhältnisse des humanen Pankreas wurden 6 sonst gesunde Personen (Geschlecht m/w : 2/4) im Alter von  $44 \pm 15$  (19 - 58) Jahren, die sich einer rechtsseitigen Hemihepatektomie zur Organspende im Rahmen einer Leberlebendtransplantation (LLTx) unterzogen, während der Operation mittels OPS imaging untersucht. Alle 6 Patienten erfüllten vor dem Eingriff die Evaluationskriterien zur Durchführbarkeit einer Organspende und konnten somit in die Studie eingeschlossen werden.

## **3.2 Orthogonale Reflexspektrophotometrie – Orthogonal Polarization Spectral (OPS) Imaging**

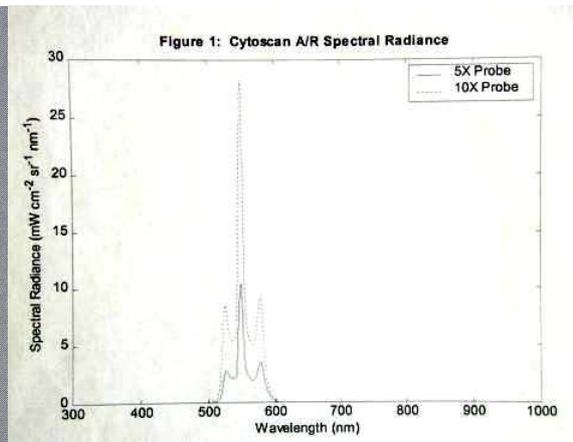
OPS imaging ist eine, erstmals 1999 von Groner und Mitarbeitern<sup>97</sup> beschriebene, nicht-invasive Methode zur in vivo Visualisierung der Oberflächenmikrozirkulation solider Organe ohne die Notwendigkeit des Einsatzes von Fluoreszenzfarbstoffen. Durch Ausnutzung des Absorptionsspektrums von Hämoglobin und den Einsatz zweier orthogonal zueinander ausgerichteter Polarisationsfilter entstehen im reflektierten Licht, wie im Folgenden beschrieben, kontrastreiche Bilder Hämoglobin enthaltender Strukturen, d. h. in erster Linie Erythrozyten (Abb.1, 2, 3).

Zunächst wird Licht aus einer Lichtquelle, die sich im Messkopf des verwendeten Cytoscan™ - Gerätes (Cytoscan™ Model E-II, Cytometrics Inc., Philadelphia, USA) befindet (Abb.1), mittels eines Spektralfilters, des sogenannten Polaristors, linear in eine Ebene polarisiert. Dieses Licht mit nunmehr einer Wellenlänge von 548 nm wird zur Messkopfspitze hin ausgerichtet und durch eine Sammellinse auf eine Region von ungefähr 1 mm Durchmesser im Zielgewebe fokussiert.

Das in eine Tiefe von 200 - 500  $\mu\text{m}$  in das Gewebe eindringende Licht wird aufgrund seiner Wellenlänge von dem dort in Erythrozyten befindlichen Hämoglobin absorbiert. Die verwendete Wellenlänge liegt dabei so im Absorptionsspektrum von Hämoglobin, dass die absorbierenden Eigenschaften von dessen oxygenierter und desoxygenierter Form gleich stark ausgeprägt sind (isobestischer Punkt) (Abb.2).



**Abbildung 1:** Messsonde des Cytoscan™-Gerätes mit integrierter OPS imaging Technik.



**Abbildung 2:** Wellenlängenbereich des von OPS imaging genutzten spektralen Lichts. Das Maximum liegt bei einer Wellenlänge von 548 nm und damit so im Bereich des Absorptionsspektrums des Hämoglobin, dass dessen oxygenierte und desoxygenierte Form gleich stark absorbieren (isobestischer Punkt).

Der nicht aufgenommene Anteil des Lichts wird durch das Organewebe gestreut und damit depolarisiert. Diese Streustrahlung beleuchtet die absorbierenden Kontrast gebenden Erythrozyten im Vordergrund und sorgt somit für eine scharfe Abbildung derselben im später entstehenden Bild. Auf diese Weise kommt das Erythrozyten enthaltende Gefäßbett dunkel vor dem umgebenden hellen hämoglobinfreien Gewebe zur Darstellung. Das vom Organ zurückgestrahlte Licht trifft auf den zweiten Polarisationsfilter, den sogenannten Analysator. Dieser ist direkt vor einer im Cytoscan-Gerät integrierten Videokamera positioniert und

orthogonal zur Ebene des beleuchtenden polarisierten Lichts ausgerichtet. Aufgrund dieser Anordnung sind nur die im Gewebe depolarisierten Photonen, nicht aber das an der Organoberfläche reflektierte, polarisierte Licht, in der Lage, den Analysator zu passieren. Somit trägt auch nur der depolarisierte Anteil zur Entstehung des Bildes bei, welches nun mit einer 465-fachen Vergrößerung von der Videokamera aufgenommen, auf dem Bildschirm dargestellt und auf einen am Gerät angeschlossenen Videorekorder (S-VHS, AG 7350-E, Panasonic, Matsushita Electric Ind., Osaka, Japan) übertragen wird. Die auf Videokassetten aufgenommenen Filme der Mikrozirkulation stehen somit einer vom Aufnahmezeitpunkt unabhängigen Analyse zur Verfügung.

Der Nachweis der sicheren Anwendbarkeit des OPS imaging Systems unter klinischen Bedingungen ist im EC certificate of conformity Nr. GOD 00 1041750 001 dokumentiert.

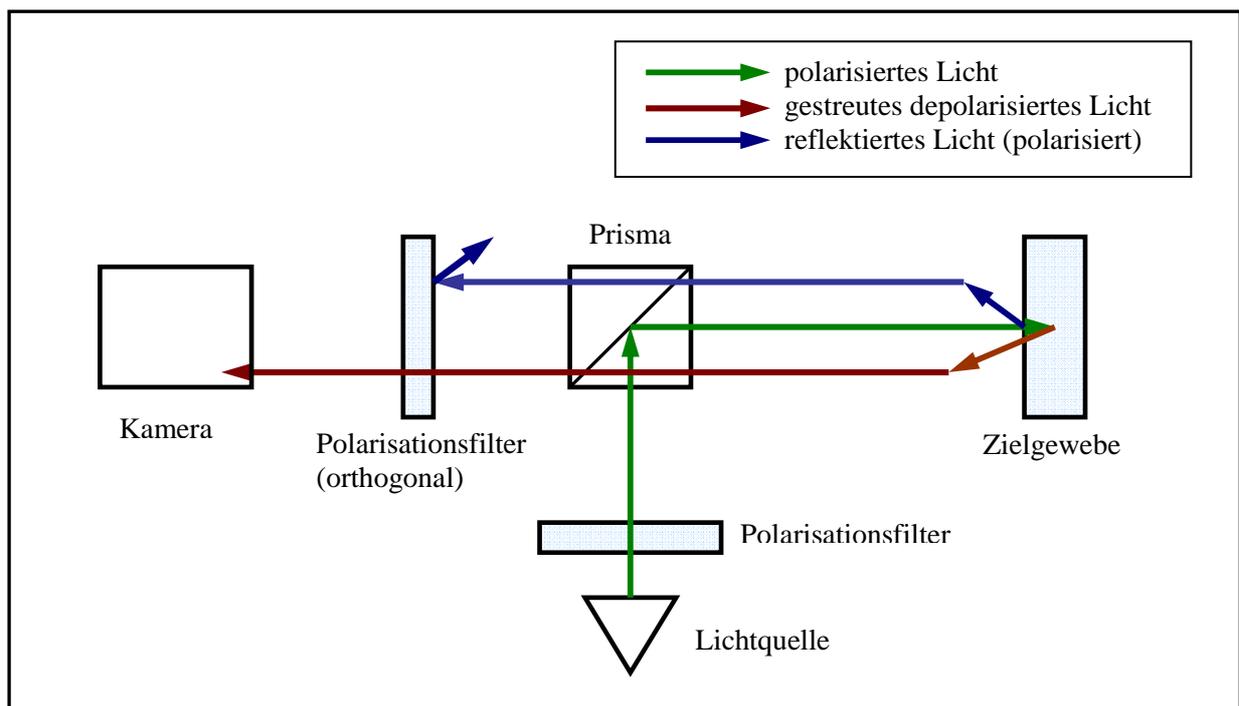


Abbildung 3: Optisches Prinzip des OPS imaging.

### **3.3 Operationstechnik, intraoperatives Orthogonal Polarization Spectral Imaging und postoperative Organfunktion**

#### **3.3.1 Operationstechnik**

##### 3.3.1.1 Allgemeine Angaben zur Anästhesie

Alle Operationen von PNTx- und Kontrollgruppen wurden mit Thiopental (4 - 6 mg/kg KG), Fentanyl (0,1 mg/kg KG) und Vecuronium (0,1 mg/kg KG) bzw. Cis-Atracurium (0,1 mg/kg KG) eingeleitet. Sie wurden dann unter balancierter Volatil-Anästhesie mit Desfluran 3,5 - 4,5 vol%, Stickoxydul (Lachgas) 50 - 70 vol% und einem Sauerstoff/Luft-Gemisch mit einem  $FiO_2$  von 0,4 durchgeführt. Die Überwachung der intraoperativen Makrohämodynamik beinhaltete die kontinuierliche Erfassung von arteriellem und zentralvenösem Blutdruck, Elektrokardiogramm sowie Kapnometrie zur Erhaltung des  $etCO_2$  bei 4 - 6 vol%. Nach Anästhesieausleitung wurden alle Patienten extubiert und zur Überwachung und weiteren Führung auf eine transplantationsspezialisierte Intensivstation verlegt.

##### 3.3.1.2 Pankreas-Donor-Operation und Transplantateigenschaften

Die Transplantat-Pankreatektomie erfolgte unter stabilen makrohämodynamischen Bedingungen und entsprechend den Standards der Multiorganspende. Dabei wurde das Organ zusammen mit der Pars descendens des Duodenum und den versorgenden Gefäßen entnommen. Die in situ Perfusion mit Konservierungslösung wurde in 9 der Fälle mit UW (University of Wisconsin)-, in den restlichen 4 Fällen mit HTK (Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat)- Lösung durchgeführt. Das Pankreas einschließlich des mit entnommenen Duodenalsegments und der versorgenden Gefäße wurde dann bis zur Reperfusion in Eiswasser aufbewahrt. Alle Transplantate wurden vor Implantation auf ABO-Kompatibilität mit den Empfänger-Blutgruppeneigenschaften überprüft und zeigten negative Kreuzproben. Die Qualität der Organe wurde in allen Fällen als gut befunden, es wurden keine marginalen Organe im Sinne der allgemein akzeptierten Kriterien<sup>4</sup> (Organe mit makroskopisch sichtbaren Zeichen von fettiger Infiltration, Ödemen oder Fibrose sowie von deutlicher Atherosklerose der Gefäße oder schlechter Durchspülung mit

Konservierungslösung) zur Transplantation verwendet. Die kalte Ischämiezeit der Transplantate lag durchschnittlich bei  $9,6 \pm 3,3$  (4,5 - 14,5) Stunden.

### 3.3.1.3 Pankreas-Empfänger-Operation

Die Implantation des Pankreas erfolgte bei allen Patienten in Darmdrainage-Technik und systemisch-venöser Anastomose der Gefäße. Dabei wurde nach Laparotomie zunächst die Drainage des Organs für die Ableitung des exokrinen Pankreassekrets über die belassene Pars descendens des Duodenum in das Empfänger-Jejunum angelegt (enterale Drainage). Danach folgte die Anastomosierung des am Transplantat belassenen Pfortaderanteils mit der Vena cava des Empfängers zur venösen Drainage des Organs (systemisch-venöse Drainage). Zur Sicherstellung der arteriellen Versorgung des Pankreas schloss sich nun die End-zu-Seit-Anastomosierung der Spender-Arteria (A.) iliaca communis mit der A. iliaca communis des Empfängers an. Während der Präparation im Vorfeld der Transplantation waren die den Pankreas versorgenden Gefäße A. lienalis und A. mesenterica superior mithilfe der Iliacalbifurkation des Spenders, die als Y-Segment fungiert, vereint worden.

Während des gesamten Operationszeitraumes bekamen alle Patienten kontinuierlich Aprotinin zur Proteaseinhibition in einer Dosis von 200000 IE/h intravenös verabreicht.

Die immunsuppressive Quadrupel-Therapie bestehend aus Daclizumab (Zenapax<sup>®</sup>, Roche, Hertfordshire, Großbritannien), Mycophenolat Mofetil (MMF; Cellcept<sup>®</sup>, Roche, Hertfordshire, Großbritannien), Tacrolimus (Prograf<sup>®</sup>, Fujisawa, München, Deutschland) und Prednison (Decortin<sup>®</sup>, Merck, Darmstadt, Deutschland) wurde entsprechend Schema direkt präoperativ begonnen und dann intra- und postoperativ bei allen Patienten fortgeführt.

Während der gesamten Studienzeit erhielten alle Patienten eine low-dose-Heparinisierung zur allgemeinen Thromboseprophylaxe sowie zur Reduktion des Thromboserisikos des Pankreastransplantats bestehend aus 5000 IE Heparin während der ersten 24 Stunden and nachfolgender Erhöhung auf 10000 IE/24 h in den Tagen 2 bis 7 nach Transplantation. Unter dieser Antikoagulationstherapie blieben die täglich kontrollierten PTT-Werte der Patienten unverändert (Wertebereich:  $37,8 \pm 11,4$  bis  $41,8 \pm 12,9$  s, präoperative Werte:  $32,5 \pm 4,7$  s, Werte am ersten postoperativen Tag:  $38,7 \pm 5,9$  s). Es wurden keine durch diese Therapie induzierten Blutungen beobachtet.

### 3.3.2 Intraoperative Messungen mittels Orthogonal Polarization Spectral Imaging

#### 3.3.2.1 Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe

Die Mikrozirkulation des Pankreas wurde im Anschluss an die Implantation, jeweils 5 und 30 Minuten nach Beginn der Reperfusion des Organs, mittels OPS imaging visualisiert und per Videorekorder für die spätere Auswertung aufgezeichnet. Die Analysezeitpunkte wurden in Übereinstimmung mit der chirurgischen Prozedur gewählt, nämlich so früh wie möglich nach Pankreastransplantat-Reperfusion (5 min) und dann vor Reperfusionsbeginn der Niere (30 min). Dazu wurde die mit dem gesamten Lichtkabelsystem in steriler Folie (OpMi Drape™, Zeiss Oberkochen, Deutschland) verpackte Messsonde des Cytoscan™-Gerätes vorsichtig auf der Organoberfläche unter Immersion mit physiologischer Natriumchlorid-Lösung positioniert (Abb.4). Durch manuelle Führung des Gerätes bei gleichzeitiger optischer Kontrolle der Bildqualität über einen am Gerät angeschlossenen Monitor gelang die Aufnahme scharfer, gut auswertbarer mikrovaskulärer Bilder bzw. Videosequenzen.



**Abbildung 4:** Intraoperative Anwendung des Cytoscan™-Gerätes. Die in steriler Folie verpackte Messsonde des Gerätes ist auf der Pankreasoberfläche positioniert.

Dabei wurde insbesondere darauf geachtet, den durch Kompression hervorgerufenen sichtbaren Kollaps der Mikrogefäße des Pankreas zu vermeiden. Dieser Vorgang wurde bei jedem Patienten und zu jedem Zeitpunkt, d. h. 5 und 30 Minuten nach Reperfusion, auf 4 verschiedenen Stellen von Pankreaskorpus und –kopf wiederholt, wobei jeweils eine Sequenz von mindestens 45 - 60 Sekunden Dauer kontinuierlich aufgenommen wurde. Die Positionierung und Führung des Gerätes erfolgte bei allen Aufnahmen durch denselben Untersucher (Abb. 4).

### 3.3.2.2 Kontrollgruppe

Die Aufnahme der Bilder in der Kontrollgruppe erfolgte in der unter 3.3.2.1 beschriebenen Technik direkt nach Laparotomie und Eröffnung der Bursa omentalis, d. h. vor jeder weiteren intraabdominellen Manipulation. Dabei wurden auch hier kontinuierliche Sequenzen von jeweils mindestens 45 - 60 Sekunden Dauer von 4 verschiedenen Stellen des Pankreaskopfes und –korpus aufgezeichnet.

### 3.3.3 Postoperative quantitative Analyse mikrozirkulatorischer Parameter

Die Auswertung der intraoperativ aufgenommenen Videobänder erfolgte mittels des computer-gestützten Videobildanalyse-systems für dynamische Kapillarmikroskopie Cap-Image™ (Zeintl, Heidelberg, Germany), welches eine postoperative Bestimmung einer Reihe verschiedener mikrozirkulatorischer Parameter erlaubt<sup>93</sup>. Alle Bänder wurden von der gleichen Person ausgewertet, die hinsichtlich der jeweiligen untersuchten Zeitpunkte und Gruppen (PNTx- oder Kontrollgruppe) keine Informationen hatte. Die Analyse der Mikrohämodynamik beinhaltet die Bestimmung des kapillaren Durchmessers (D), der funktionellen Kapillardichte (functional capillary density, FCD) und der Erythrozytenflussgeschwindigkeit (red blood cell velocity, RBCV). Aus den gewonnenen Werten wurden dann der Heterogenitätsindex der FCD (HI-FCD), das individuelle kapillare Blutflussvolumen (capillary blood flow, CBF) und der Perfusionsindex als Ausdruck der Gesamtperfusion im Gefäßbett (PI) berechnet.

Für die Analyse von D und FCD wurden die Videokassetten per Videorekorder (S-VHS, AG 7350-E, Panasonic, Matsushita Electric Ind., Osaka, Japan) abgespielt und pro Aufnahmezeitraum (ein Messzeitraum in der Kontrollgruppe, bzw. zwei Messzeiträume in der PNTx-Gruppe, jeweils 5 und 30 Minuten nach Reperfusion) jeweils  $10 \pm 5$  randomisiert ausgesuchte scharfe Standbilder auf einem im Cap-Image™-System integrierten Monitor eingestellt und vermessen.

### 3.3.3.1 Kapillarer Durchmesser

Die kapillaren Durchmesser (D in  $\mu\text{m}$ ) wurden bestimmt, indem per Mouse-Klick jeweils die Gefäßränder der zu vermessenden Kapillare auf dem Monitor-Standbild markiert wurden. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Durchmesserstrecke exakt senkrecht zur Gefäßwand lag. Pro Standbild wurden so die Diameter 8 verschiedener Kapillaren bestimmt, deren Mittelwert dann, unter Berücksichtigung der 465-fachen Vergrößerung der Monitorbilder, durch Cap-Image™ berechnet wurde. Da für jeden Aufnahmezeitraum  $10 \pm 5$  Standbilder analysiert wurden, ergaben sich entsprechend viele Mittelwerte, aus denen nun der jeweilige Gesamt-Mittelwert pro Aufnahmezeitraum und Patient bestimmt wurde.

### 3.3.3.2 Funktionelle Kapillardichte

Die Funktionelle Kapillardichte (FCD in  $\text{cm}^{-1}$ ) ist definiert als die Länge der mit Erythrozyten perfundierten Kapillaren (in cm) pro Fläche (in  $\text{cm}^2$ ) und reflektiert direkt den Zustand der nutritiven Gewebepfusion<sup>103</sup>. Zu deren Bestimmung wurde zuerst per Mouse-Klick eine möglichst große Fläche mit scharfer Abbildung der Kapillaren auf dem Monitor umrandet, deren Größe dann durch das Cap-Image™-System automatisch bestimmt wurde. Nach Festlegung dieser Bezugsfläche konnten dann die in dieser Fläche sichtbaren Kapillaren nachgezeichnet werden. Danach erfolgte die Berechnung des Quotienten aus jeweils gemessener Kapillarlänge und Fläche. Aus den ermittelten FCD-Werten wurde anschließend der Mittelwert pro Aufnahmezeitraum und Patient bestimmt.

### 3.3.3.3 Erythrozytenflussgeschwindigkeit

Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV in  $\mu\text{m/s}$ ), die Geschwindigkeit der Kapillarpassage von Erythrozyten, ist eine für die Effektivität der Sauerstoffversorgung des Gewebes wichtige mikrozirkulatorische Größe.

Zur Erfassung der RBCV kam die Frame-to-Frame-Methode zur Anwendung. Dazu wurde das jeweilige Video in Superzeitlupe („slow motion“) mit einem Einzelbildabstand von 0,02 Sekunden abgespielt. Dabei konnten die Bewegungen der sich in den Kapillaren zwischen Plasmalücken befindlichen Erythrozytensäulen von Bild zu Bild (Frame to Frame) genau beobachtet werden. Gleichzeitig wurde die Zeit  $t$  gemessen, die eine Erythrozytensäule für die Passage eines beobachteten linear verlaufenden Kapillarabschnittes benötigte. Die Länge  $s$  dieses Abschnittes wurde jeweils nach Markierung am Monitor bestimmt. Die Geschwindigkeitsberechnung erfolgte dann mit der Formel:

$$\text{RBCV} = s / t$$

$s$  = Länge des Kapillarabschnittes (in  $\mu\text{m}$ )

$t$  = Passagezeit (in s)

Auf diese Weise wurde pro Aufnahmezeitraum und Patient die Erythrozytenflussgeschwindigkeit in  $15 \pm 5$  verschiedenen Kapillaren bestimmt.

### 3.3.3.4 Volumetrischer kapillarer Blutfluss

Der volumetrische Fluss in den einzelnen Kapillaren (CBF in  $\text{pl/s}$ ) wurde aus  $D$  und RBCV unter der Annahme einer zylindrischen Geometrie der Kapillaren nach folgender Formel berechnet:

$$\text{CBF} = \pi \times (D/2)^2 \times \text{RBCV} \times 0,001$$

$D$  = kapillarer Durchmesser (in  $\mu\text{m}$ )

RBCV = Erythrozytenflussgeschwindigkeit (in  $\mu\text{m/s}$ )

Wegen der nicht Newton'schen Flusseigenschaften von Blut könnten die ermittelten absoluten Werte vom aktuell bestehenden Blutfluss abweichen, sie erlauben aber eine Erfassung relativer Veränderungen zwischen den Gruppen.

### 3.3.3.5 Perfusionsindex

Zur Einschätzung der Veränderungen in der Gesamtperfusion im beobachteten Kapillarnetz wurde der Perfusionsindex (PI) aus den Werten von FCD und CBF berechnet<sup>30</sup>:

$$PI = FCD \times CBF$$

PI = Perfusionsindex (in pl/cm $\times$ s)

FCD = funktionelle Kapillardichte (in cm<sup>-1</sup>)

CBF = kapillarer Blutfluss (in pl/s)

### 3.3.3.6 Heterogenitätsindex der funktionellen Kapillardichte

Der Heterogenitätsindex der FCD (HI-FCD) dient der Feststellung von durch Ischämie und Reperfusion bedingten Inhomogenitäten der Perfusionsdichte im Kapillargebiet zu den verschiedenen Aufnahmezeiträumen. Zur seiner Bestimmung wurde folgende Formel verwendet:

$$HI = (FCD_{max} - FCD_{min}) / FCD_{mean}$$

FCD<sub>max</sub> = größter pro Aufnahmezeitraum gemessener FCD-Wert

FCD<sub>min</sub> = kleinster pro Aufnahmezeitraum gemessener FCD-Wert

FCD<sub>mean</sub> = mittlerer FCD-Wert pro Aufnahmezeitraum

## 3.3.4 Erfassung laborchemischer Parameter

Nachfolgend sollte geprüft werden, ob Zusammenhänge zwischen den erhobenen kapillarmikroskopischen Befunden in der frühen Reperusionsphase nach Ischämie und dem klinischen Verlauf in den ersten Tagen nach der Transplantation bestanden. Dazu wurden folgende Labordaten der PNTx-Patienten präoperativ sowie im Zeitraum zwischen dem 1. und 7. postoperativen Tag erhoben:

#### 3.3.4.1 Enzymaktivitäten von Serum-Lipase und -Amylase

Lipase (in U/l, Normwerte: 0 - 70) und Amylase (in U/l, Normwerte: 28 - 100) wurden mittels colorimetrischem kinetischen enzymatischen Assay (Roche<sup>®</sup> Diagnostics, Mannheim, Deutschland) bestimmt.

Lipase und Amylase sind vom exokrinen Pankreasgewebe sezernierte Enzyme, deren Aktivitäten im Serum für die Diagnose einer Zellschädigung im Rahmen einer Pankreatitis herangezogen werden.

#### 3.3.4.2 Serum-CRP und Leukozytenzahl im Blut

Die Bestimmung der CRP-Werte (in mg/l, Normwerte: <6) erfolgte mittels turbidimetrischem Immunoassay (Roche<sup>®</sup> Diagnostics, Mannheim, Deutschland), die der Leukozytenzahl (in Zahl/nl, Normwerte: 6 - 9) durch Standardverfahren.

CRP und Leukozytenzahl sind unspezifische Parameter, die als Indikatoren für im Körper ablaufende inflammatorische Prozesse dienen.

#### 3.3.4.3 Hämatokritgehalt des Blutes

Die Messung des Hämatokrit (in %, Normwerte 37 - 50) erfolgte durch Standardverfahren.

#### 3.3.4.4 C-Peptid und Glucose-Konzentration

Die C-Peptid-Werte (in ng/ml, Normwerte: 0,88 - 3,99) wurde mit dem Chemilumineszenz-Immunoassay (DPC Biermann, Bad Nauheim, Deutschland) gemessen, die Glucose-Konzentration (mg/dl) im Blut durch Standardverfahren.

Die C-Peptidkonzentration im systemischen Kreislauf gibt Aufschlüsse über die Funktion des insulinproduzierenden und –sezernierenden endokrinen Bauchspeicheldrüsengewebes. C-Peptid wird in äquimolaren Konzentrationen wie Insulin aus den  $\beta$ -Zellen freigesetzt<sup>104,105</sup>.

Neben laborchemischen Parametern wurden zur Feststellung von Auswirkungen auf die postoperative Transplantatschädigung weitere im Zusammenhang mit der Transplantation stehende Faktoren, wie Alter der Organspender, Zeitdauer zwischen Eintritt des Hirntods der Organspender bis zur Organentnahme, kalte Ischämiezeit der Organe, sowie die Art der Konservierungslösung, erhoben.

### **3.4 Statistische Auswertung**

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit einer Analysemethode für wiederholte Messungen in 3 Gruppen<sup>106</sup> und mithilfe der Statistikprogramme SigmaStat (Version 2.0, Jandel Scientific) und SigmaPlot (Version 8.0, Jandel Scientific). Im Einzelnen wurden folgende Analysen durchgeführt:

1. Berechnung und Darstellung aller Daten in Form von Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung.
2. Prüfung der Normalverteilung der ermittelten Mikrozirkulations- und der Laborwerte mittels Kolmogorov-Smirnov-Test.
3. Ermittlung von statistischen Unterschieden der Mikrozirkulationswerte des Pankreas jeweils zwischen der Kontrollgruppe und den verschiedenen Aufnahmezeiträumen (5 und 30 Minuten) nach Reperfusion in der PNTx-Gruppe mittels ANOVA für wiederholte Messungen, gefolgt von der post-hoc Bonferroni-Korrektur. Bei  $p < 0,05$  wurden die Unterschiede als statistisch signifikant gewertet.
4. Analyse der Unterschiede der Mikrozirkulationsdaten zwischen den verschiedenen Zeitpunkten (5 und 30 Minuten nach Reperfusion) in der PNTx-Gruppe mittels t-Test für verbundene Proben.
5. Bestimmung von Zusammenhängen und deren Stärke zwischen den mikrozirkulatorischen Parametern 5 und 30 Minuten nach Reperfusion und den sich von Tag zu Tag verändernden laborchemischen Werten der exo- und endokrinen Organfunktion in der ersten Woche nach

Transplantation durch Streudiagramme (Scatterplots) und Anwendung des Pearson'schen Korrelationskoeffizienten  $r$ .

Dabei wurden die einzelnen Mikrozirkulationswerte für jeden Messzeitpunkt (5 und 30 min nach Reperfusion) jeweils mit den in den ersten 7 postoperativen Tagen täglich erhobenen Laborparametern (Lipase, Amylase, CRP, Leukozyten, C-Peptid) korreliert, sodass pro Laborparameter in der ersten postoperativen Woche jeweils 7 Korrelationskoeffizienten  $r$  für jeden Mikrozirkulationswert zum jeweiligen Messzeitpunkt errechnet wurden.  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet. Der zeitliche Verlauf dieser Korrelationskoeffizienten vom 1. - 7. postoperativen Tag wurde dann für jeden Laborparameter und dazugehörigen Mikrozirkulationswert graphisch dargestellt, um das Zeitprofil der Zusammenhangsstärke zwischen initialer mikrovaskulärer Dysfunktion und exo- und endokriner Organfunktion zu verdeutlichen.

6. Prüfung der Art des Zusammenhangs von in Arbeitsschritt 5. gefundenen signifikanten Korrelationen zwischen einzelnen Mikrozirkulations- und Laborwerten durch Anwendung linearer Regressionsanalyse.

Die Darstellung erfolgte hier als Scatterplot mit den jeweiligen Wertepaaren (Mikrozirkulationswert im Messzeitraum und Laborwert pro postoperativen Tag) der einzelnen Patienten mit eingelegter Regressionsgerade unter Angabe der Konfidenzintervalle von 95 %, der Regressionsgleichung und des Bestimmtheitsmaßes  $R^2$ <sup>106</sup>.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Charakterisierung der Patientengruppen

#### 4.1.1 Eigenschaften der Organspenderpatienten

Das Alter der Organspender betrug zum Todeszeitpunkt  $32 \pm 11$  (17 - 47) Jahre. Todesursachen waren in 5 Fällen eine Subarachnoidalblutung und in weiteren 5 ein schweres Schädel-Hirn-Trauma. Drei Organspender verstarben an den Folgen einer zerebrovaskulären Ischämie.

Die Zeitspanne zwischen Eintritt des Hirntodes bis zum Beginn der kalten Ischämie nach Entnahme des Pankreas lag bei  $11,1 \pm 3,3$  (3,7 - 17,5) Stunden. Die Organentnahme erfolgte unter stabilen Kreislaufverhältnissen.

Anzahl n	13
Geschlecht (männlich/weiblich)	6 / 7
Alter	$32 \pm 11$
Präoperative Laborwerte	
Hb (g/dl)	$11,4 \pm 1,5$
CRP (mg/dl)	$10,1 \pm 10,7$
Leukozyten (Gpt/l)	$15,5 \pm 8,0$
Lipase (U/l)	$45,6 \pm 39,4$
Amylase (U/l)	$185,1 \pm 86,3$
HbA1c (%)	$5,4 \pm 0,3$
Glucose im Serum (mg/dl)	$140,8 \pm 49,1$
Kreatinin (mg/dl)	$0,8 \pm 0,2$
Makrohämodynamik bei Organentnahme	
systolischer Blutdruck (mmHg)	$118 \pm 13$
diastolischer Blutdruck (mmHg)	$72 \pm 8$
mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg)	$87 \pm 9$

**Tabelle 1:** Klinische Eigenschaften und intraoperative Makrohämodynamik der Pankreas-Organspender, alle Werte als Mittelwert  $\pm$  SD

Angaben zu klinischen Charakteristika sowie der intraoperativen Makrohämodynamik der Spender sind in Tab. 1 aufgeführt.

#### 4.1.2 Eigenschaften der Patienten in der Kontrollgruppe

Alle Patienten zur Leberlebendspende zeigten während der gesamten Operationszeit der Hemihepatektomie eine stabile Makrohämodynamik (Tab. 2).

	Kontroll- gruppe	PNTx-Gruppe	
Anzahl n	6	13	
Geschlecht (männlich / weiblich)	2 / 4	7 / 6	
Alter	44 ± 15	43 ± 10	
Ischämiezeit des Pankreas (h)	-	9,3 ± 3,3 (4,5 - 14,5)	
Intraoperative Hämodynamik		5 min nach Reperfusion	30 min nach Reperfusion
systolischer Blutdruck (mmHg)	115 ± 21	116 ± 17	122 ± 22
diastolischer Blutdruck (mmHg)	66 ± 17	55 ± 12	56 ± 11
mittlerer arterieller Blutdruck (mmHg)	82 ± 18	76 ± 13	78 ± 14
Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	68 ± 11	82 ± 15	94 ± 14
pH	7,44 ± 0,06	7,31 ± 0,05	7,31 ± 0,03
venöser Kohlenstoffdioxiddruck p <sub>v</sub> CO <sub>2</sub> (mmHg)	34,9±2,0 (art)	41,2 ± 3,0	41,7 ± 3,1
end tidal carbon dioxide tension etCO <sub>2</sub> (vol.%)	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,2	4,5 ± 0,4
arterielle Sauerstoffsättigung (%)	99 ± 1	99 ± 1	99 ± 1
Hämoglobin-Konzentration (g/dl)	13,3 ± 1,0	10,0 ± 1,2	9,5 ± 1,2
zentraler Venendruck (cmH <sub>2</sub> O)	7 ± 3	8 ± 3	9 ± 3

**Tabelle 2:** Klinische Eigenschaften und intraoperative Makrohämodynamik der Leberlebendspender, die sich im Rahmen einer LLTx einer Hemihepatektomie unterzogen (Kontrollgruppe) und der Empfänger einer simultanen Pankreas-Nieren-Transplantation (PNTx-Gruppe). Alle Werte als Mittelwert ± SD.

### **4.1.3 Eigenschaften der Patienten in der Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe**

Das mittlere Alter der Patienten von  $43 \pm 10$  Jahren, die  $29 \pm 9$ -jährige Erkrankungsdauer seit der Diagnosestellung des Diabetes und die gleichmäßige Geschlechterverteilung (m/w : 6/7) in der PNTx-Gruppe waren mit denen von in anderen Pankreastransplantationsprogrammen untersuchten Personengruppen vergleichbar<sup>4,5,7</sup>.

Die durchschnittliche Organkonservierungszeit lag bei  $9,3 \pm 3,3$  Stunden und überschritt in keinem der Fälle eine Dauer von 15 Stunden.

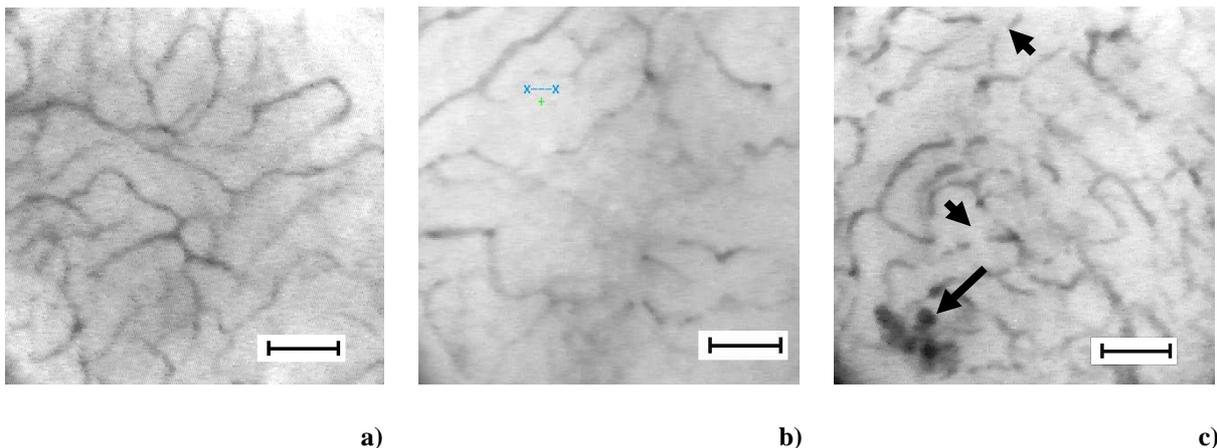
Die intraoperative Überwachung der Makrohämodynamik zeigte stabile arterielle Blutdrücke und zentrale Venendrucke bei allen Pankreastransplantat-Empfängern. Die Werte des venösen Kohlenstoffdioxid drucks, des  $\text{etCO}_2$  und der arteriellen Sauerstoffsättigung aller Patienten blieben zu beiden Aufnahmezeitpunkten unverändert in den Normbereichen und waren mit denen der Kontrollgruppe vergleichbar. Demgegenüber war die Herzfrequenz der PNTx-Patienten im Vergleich zu den Kontrollpatienten bei zum Aufnahmezeitpunkt deutlich längerer Operationszeit erhöht, der pH und die Hämoglobinkonzentration hingegen erniedrigt (Tab. 2).

Während der Studienperiode, d. h. innerhalb der ersten postoperativen Woche, kam es in keinem der Fälle zum Organverlust, allerdings entwickelten zwei der 13 Patienten Posttransplantationskomplikationen. Bei einem Patienten kam es zu einer moderaten Transplantatpankreatitis, die mittels Ultraschalluntersuchungen und anhand erhöhter Pankreasenzymaktivitäten diagnostiziert wurde. Bei einem anderen Patienten wurde aufgrund eines thrombotischen Verschlusses der Arteria iliaca externa am dritten postoperativen Tag eine Embolektomie durchgeführt. Beide Patienten benötigten zwischenzeitlich eine zusätzliche exogene Insulintherapie, um einen stabilen Blutglucosehaushalt zu erhalten. Alle anderen Patienten zeigten einen komplikationslosen Verlauf, im Speziellen entwickelten sie keine lokalen oder systemischen Infektionen, keine Thrombose des Pankreas- oder Nierentransplantats und keine akuten Rejektionsepisoden, die eine Organbiopsie zur Diagnosebestätigung und eine weitere Behandlung notwendig gemacht hätten.

## 4.2 Orthogonal Polarization Spectral Imaging

Mittels OPS imaging gelang die Aufnahme qualitativ hochwertiger, gut kontrastierter und scharfer Bilder der Pankreasmikrozirkulation. Es ermöglichte das Differenzieren der von Erythrozyten perfundierten individuellen mikrovaskulären Segmente der Pankreasazini in Form eines Netzwerkes nutritiver Kapillaren, Arteriolen und Venolen (Abb. 1). Diese Aufnahmen konnten postoperativ problemlos quantitativ analysiert werden.

## 4.3 Die Mikrozirkulation des Pankreas



**Abbildung 5a), b), c):** OPS imaging der humanen Pankreasmikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen und nach Transplantation. **a)** Physiologische Pankreasmikrozirkulation von gesunden Leberlebendspendern, die sich im Rahmen einer LLTx einer Hemihepatektomie rechts unterzogen. Das azinäre Kapillarmuster ist durch eine homogene Perfusion ohne Zeichen einer mikrovaskulären Schädigung gekennzeichnet. Im Gegensatz dazu zeigt die mikrovaskuläre Perfusion des Transplantats **b)** 5 min und **c)** 30 min nach Reperfusionbeginn eine Abnahme der Dichte der von Erythrozyten perfundierten Kapillaren bei gleichzeitig erhöhten kapillaren Durchmessern und interkapillaren Abständen sowie einer gesteigerten Heterogenität des Perfusionsbildes. Nach 30-minütiger Reperfusion zeigt OPS imaging deutlich die Manifestation der durch Ischämie/Reperfusion hervorgerufenen kapillaren Dysfunktion mit sporadischen Hämorrhagien (langer Pfeil), vereinzelter mikrovaskulärer Stase und irregulärem kapillaren Fluss (Erythrozytensludge mit angrenzenden Plasmalücken) (kurze Pfeile). Originalvergrößerung: 465x, der dargestellte Maßstab zeigt 50  $\mu\text{m}$ .

#### **4.3.1 Die Mikrozirkulation des Pankreas der Kontrollpatienten**

Die Aufnahmen des Pankreas in der Kontrollgruppe zeigten ein homogenes azinäres Perfusionsmuster des exokrinen Gewebes, bestehend aus einem dichten Netzwerk von nutritiven Kapillaren, afferenten Arteriolen und postkapillaren Venolen (Abb. 5a). Das funktionelle Kapillarnetz zeichnete sich durch eine gleichmäßige Verteilung der Gefäße im jeweils sichtbaren Gebiet mit einer mittleren FCD von  $426 \pm 37 \text{ cm}^{-1}$  bei einer Spannweite der Werte zwischen 370,4 und  $466,7 \text{ cm}^{-1}$  aus. Der mittlere kapillare Durchmesser lag bei  $6,3 \pm 0,25 \text{ }\mu\text{m}$ . Der Blutfluss war durch eine durchschnittliche Geschwindigkeit (RBCV) von  $1010 \pm 194$  (722,4 - 1311,1)  $\mu\text{m/s}$  gekennzeichnet (Tab. 3). Dabei zeigte sich in den einzelnen Kapillaren eine sich gleichmäßig bewegende Erythrozytensäule, wobei ein Nebeneinander von Gefäßen mit sehr schnellem Fluss und anderen mit relativ geringer RBCV zu beobachten war. Nachfolgende Berechnungen ergaben dann für die gesunde Pankreasperfusion einen durchschnittlichen volumetrischen Blutfluss in den einzelnen Kapillaren (CBF) von 31,4  $\text{pl/s}$  und eine kapillare Gesamtperfusion (PI) von ca. 13500  $\text{pl/s}\times\text{cm}$  (Tab. 3). Störungen der azinären Mikrohämodynamik in Form von kapillarer Stase oder Thrombose, nicht durchbluteten Arealen bzw. solchen mit intermittierendem Blutfluss oder mikrovaskulärer Hämorrhagie, waren nicht nachweisbar.

Die Mikrozirkulation von Langerhans-Inseln wurde allerdings, unabhängig von Gruppenzugehörigkeit oder Aufnahmezeitpunkt, mit der angewandten Methode nicht sicher dargestellt, sodass eine selektive quantitative Analyse der endokrinen Gewebepfusion des Pankreas durch OPS imaging nicht möglich war.

#### **4.3.2 Die Mikrozirkulationsstörung des Pankreas in der frühen Reperfusionphase nach Transplantation**

Der Vergleich der Ergebnisse der physiologischen Pankreasperfusion der Kontrollpatienten mit der Mikrozirkulation des Pankreas in der PNTx-Gruppe machte die durch Ischämie und Reperfusion hervorgerufene mikrovaskuläre Dysfunktion im Transplantat deutlich (Tab. 3, Abb. 5a – 5c).

Gruppen	D ( $\mu\text{m}$ )	FCD ( $\text{cm}^{-1}$ )	HI-FCD	RBCV ( $\mu\text{m/s}$ )	CBF ( $\text{pl/s}$ )	PI ( $\text{pl/s}\times\text{cm}$ )
Kontrolle	$6,3 \pm 0,2$	$426 \pm 37$	$0,22 \pm 0,06$	$1010 \pm 194$	$31,4 \pm 5,1$	$13493 \pm 2915$
5 min Reperfusion	$7,2 \pm 0,3 *$	$341 \pm 56 *$	$0,28 \pm 0,10$	$656 \pm 125 *$	$26,7 \pm 5,1$	$9155 \pm 2674$
30 min Reperfusion	$7,2 \pm 0,7 *$	$339 \pm 41 *$	$0,33 \pm 0,10$	$720 \pm 79 *$	$33,1 \pm 13,8$	$10174 \pm 995$

**Tabelle 3:** Mikrovaskuläre Parameter und azinäre Mikrohämodynamik des humanen Pankreas in gesunden Kontrollpatienten sowie nach klinischer Pankreastransplantation (5 min und 30 min nach Reperfusion). Alle Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  SD dargestellt; \*  $p < 0,05$  vs. Kontrollen (ANOVA, post hoc Bonferroni-Korrektur).

D: kapillare Durchmesser, FCD: funktionelle Kapillardichte, HI-FCD: Heterogenitätsindex der kapillaren Durchblutung, CBF: volumetrischer Blutfluss in individuellen azinären Kapillaren, PI: Perfusionsindex zur Darstellung der gesamten Kapillarperfusion, errechnet aus FCD und CBF.

Ischämie und Reperfusion resultierten in einer gleich bleibend signifikant niedrigeren funktionellen Kapillardichte zu beiden Messzeiträumen nach Transplantation (Tab. 3, Abb. 5b). Die Abnahme der FCD war durch die geringere Zahl von perfundierten Kapillaren und gleichzeitig durch die Zunahme der interkapillaren Abstände bedingt. Zusätzlich zeigte sich, im Gegensatz zu den Aufnahmen der gesunden Probanden, zu beiden Reperfusionzeitpunkten eine deutliche Zunahme der Heterogenität des Perfusionsmusters (Tab. 3). Die Ursache dafür lag in starken Ungleichmäßigkeiten der Verteilung der perfundierten Gefäße mit auf den einzelnen Standbildern sichtbarem Nebeneinander von dicht perfundierten Azinusanteilen und ischämischen Arealen.

Die Transplantatreperfusion resultierte weiterhin in vereinzelter kapillarer Stase oder Thrombose, sporadisch auftretender mikrovaskulärer Hämorrhagie (Abb. 5c) sowie einem intermittierenden Blutfluss mit variablem Erythrozytensludge in ausgedehnten Plasmalücken (Abb. 5c) und alternierend sistierender und wieder einsetzender Perfusion. Die Aufnahmen eines Transplantats zeigten zu beiden Zeitpunkten komplette Thrombose bzw. Stase in allen sichtbaren Gefäßen und konnten daher nicht quantitativ analysiert werden.

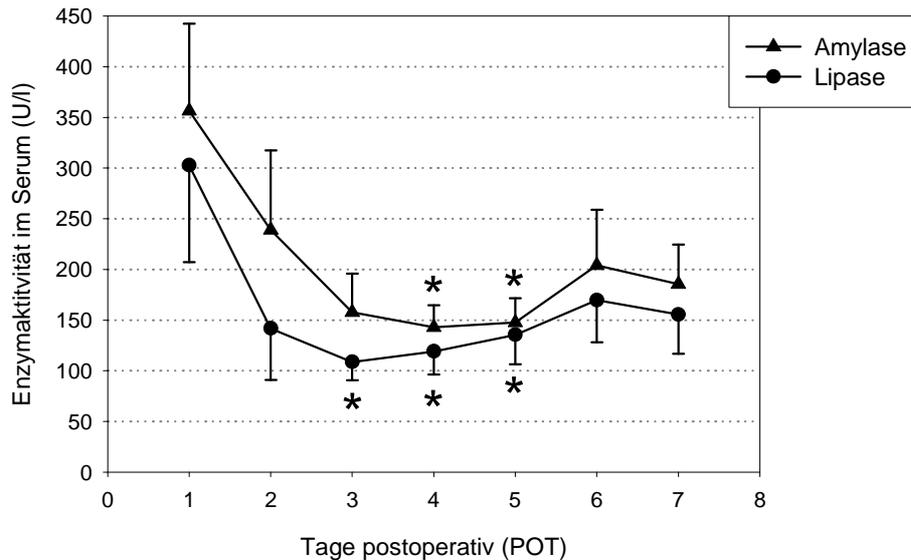
Weiterhin zeigten die Ergebnisse in der PNTx-Gruppe gegenüber den Kontrollen deutlich geringere kapillare Erythrozytenflussgeschwindigkeiten (RBCV), die auch nach 30-minütiger Reperusionszeit nur 70 % der Normalwerte der Leberlebendspender erreichten (Tab. 3). Gleichzeitig stellten sich die Kapillaren zu beiden Zeitpunkten nach Ischämie und Reperfusion im Gegensatz zu den Normalaufnahmen mit einem um 0,9  $\mu\text{m}$  signifikant erhöhten mittleren Durchmesser dilatiert dar (Tab. 3). Daraus berechnete sich ein CBF der Einzelkapillaren, der nach 5-minütiger Reperfusion im Vergleich zur Kontrollgruppe zwischenzeitlich verringert, aber ohne signifikante Unterschiede war. Der Perfusionsindex blieb in den Gruppen relativ unverändert, allerdings mit einem Trend zu niedrigeren Werten bei den Transplantatempfängern im Gegensatz zu den Leberspendern (Tab. 3).

#### **4.4 Postoperativer Verlauf der laborchemischen Parameter in der Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe**

##### **4.4.1 Exokrine Organfunktion: Lipase- und Amylaseaktivität im Serum**

Die im Serum gemessenen Amylase- und Lipaseaktivitäten der Pankreastransplantat-Empfänger zeigten in den ersten postoperativen Tagen einen sehr ähnlichen zeitlichen Verlauf (Abb. 6). So wurden sowohl für die Amylase (Normwerte: 28 - 100 U/l) als auch für die Lipase (Normwerte: 0 - 70 U/l) die Spitzenwerte der Serumaktivität von durchschnittlich  $356 \pm 309$  U/l bzw. von  $302 \pm 244$  U/l am 1. postoperativen Tag (POT) gemessen.

In den folgenden Tagen zeigte sich dann ein deutlicher Abfall der Mittelwerte mit den niedrigsten Werten zwischen 3. und 5. POT (Amylaseaktivität am 4. POT  $143 \pm 75$  U/l, Lipaseaktivität am 3. POT mit  $108 \pm 61$  U/l). Daraufhin erfolgte am 6. und 7. POT ein erneuter leichter Anstieg der Serumaktivitäten beider Enzyme.

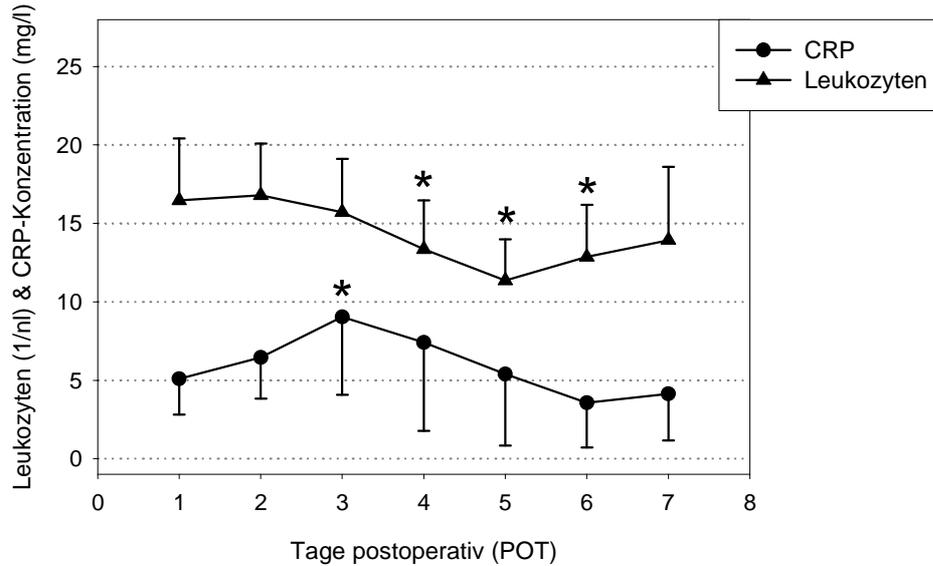


**Abbildung 6:** Zeitlicher Verlauf der Amylase- und Lipaseaktivitäten im Serum der Patienten in der ersten Woche nach Pankreas-Nieren-Transplantation (POT: postoperativer Tag). Die Daten sind dargestellt als Mittelwert  $\pm$  SD.  
\*  $p < 0,05$  vs. dem postoperativen Tag 1.

#### 4.4.2 Entzündungsparameter: CRP-Konzentration und Leukozytenzahl

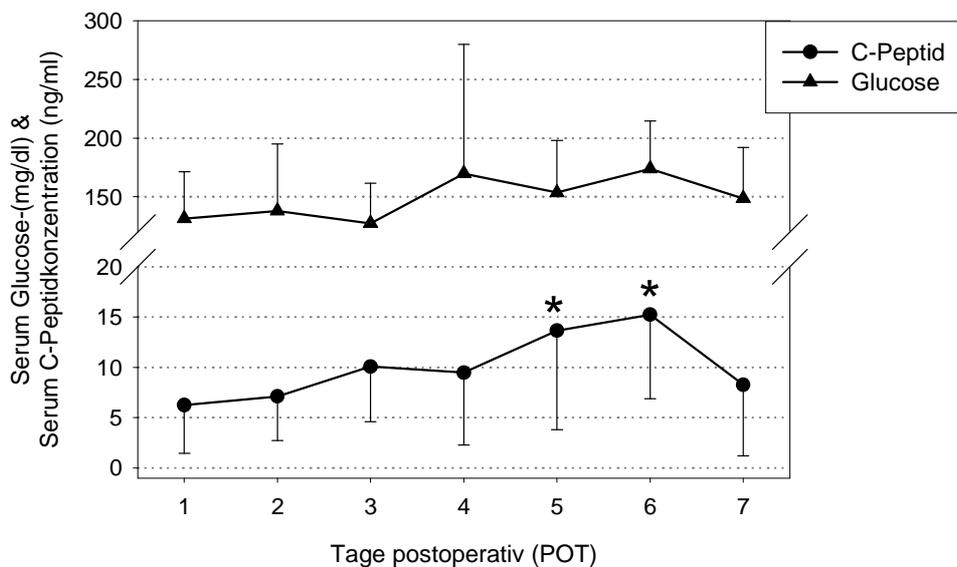
Die durchschnittliche CRP-Konzentration (Normwerte:  $< 6$  mg/l) lag am ersten postoperativen Tag (POT) im Mittel bei  $5,1 \pm 2,3$  mg/l und zeigte dann als Hinweis auf eine systemische inflammatorische Reaktion einen zum 1. POT signifikanten Anstieg auf  $9,0 \pm 4,9$  (2,2 – 18,4) mg/l am 3. POT. Bis zum 7. POT ( $4,1 \pm 2,9$  mg/l) war dann wieder ein CRP-Abfall auf das Niveau des Ausgangswertes vom 1. POT zu beobachten (Abb. 7).

Für die mittlere Leukozytenzahl aller Patienten am 1. POT wurde mit  $16,7 \pm 6,0$  (10,5 – 23,6) /nl ein über der Norm (6 – 9 /nl) liegender Mittelwert bestimmt. Dieser fiel dann jedoch im Verlauf bis zum 5. POT auf  $11,4 \pm 2,6$  (6,1 – 16,4) /nl ab, wobei die Werte von POT 4 bis 6 signifikant unter dem am POT 1 gemessenen Wert lagen (Abb. 7).



**Abbildung 7:** Zeitlicher Verlauf der CRP-Konzentrationen im Serum und der Leukozytenzahlen im peripheren Blutbild der Patienten in der ersten Woche nach Pankreas-Nieren-Transplantation (POT: postoperativer Tag). Die Daten sind dargestellt als Mittelwert  $\pm$  SD. \*  $p < 0,05$  vs. dem postoperativen Tag 1.

#### 4.4.3 Endokrine Organfunktion: C-Peptid- und Glucosekonzentrationen im Serum



**Abbildung 8:** Zeitlicher Verlauf der C-Peptid- und Glucosekonzentrationen im Serum der Patienten in der ersten Woche nach Pankreas-Nieren-Transplantation (POT: postoperativer Tag). Die Daten sind dargestellt als Mittelwert  $\pm$  SD. \*  $p < 0,05$  vs. dem postoperativen Tag 1.

Die postoperativen C-Peptidwerte (Normbereich: 0,88 - 3,99 ng/ml), die zur Feststellung der  $\beta$ -Zellfunktion nach Ischämie und Reperfusion in den ersten 7 Tagen nach Transplantation bestimmt wurden, nahmen zwischen 1. (6,2  $\pm$  4,8 ng/ml) und 6. POT (15,2  $\pm$  8,3 ng/ml) langsam zu, wobei sie an Tag 5 und 6 gegenüber dem 1. POT signifikant höhere Werte erreichten (Abb. 8). Während der gesamten Studienperiode zeigten die täglich gemessenen Blutglucosekonzentrationen (Wertebereich: 127  $\pm$  34 bis 174  $\pm$  41 mg/dl) im Vergleich zum 1. POT (132  $\pm$  41 mg/dl) keine signifikant veränderten Werte (Abb. 8).

#### **4.4.4 Hämatokrit**

Es ist bekannt, dass über die Normwerte hinaus erhöhte Hämatokritkonzentrationen zu Störungen der Mikrozirkulation in Form von verschlechterten rheologischen Blutflusseigenschaften, vermehrtem Erythrozytensludging sowie gesteigerter Thrombozytenaggregation führen. In unserer Studie waren die Hämatokritwerte im gesamten Beobachtungszeitraum konstant und lagen zwischen 36,4  $\pm$  3,6 % präoperativ und 31,0  $\pm$  3,7 % am 1. POT bzw. 30,2  $\pm$  2,9 % am 7. POT (Mittelwert von 1. - 7. POT: 30,2  $\pm$  0,6 %; Spanne: 29,2 - 31,0 %).

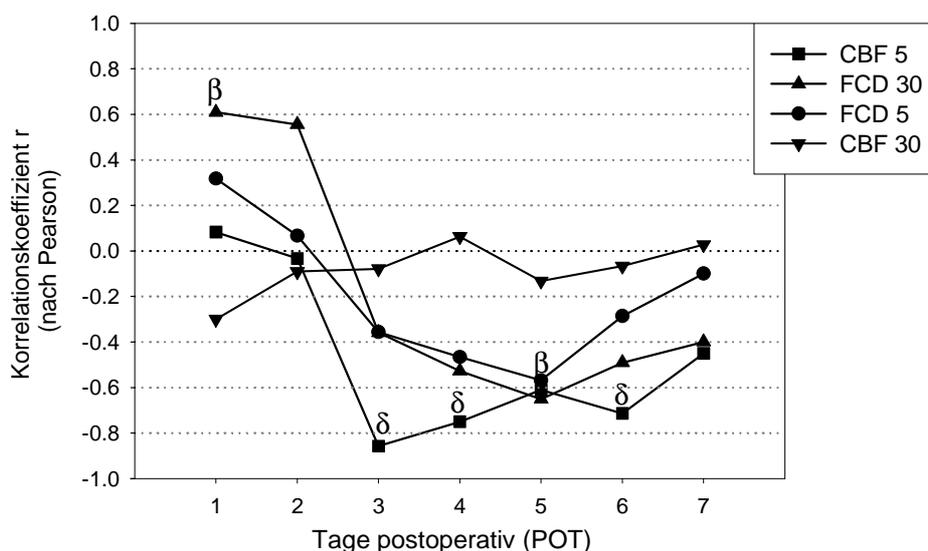
#### **4.5 Korrelation von mikrozirkulatorischen und laborchemischen Parametern der Pankreas-Nieren-Transplantationsgruppe**

Der individuelle zeitliche Verlauf der Serumaktivitäten von Amylase und Lipase, der C-Peptid- und CRP-Konzentrationen variierte zum Teil deutlich zwischen den Patienten und den verschiedenen Bestimmungszeitpunkten. Diese Tatsache legte die Annahme nahe, dass das individuelle Ausmaß der nach Transplantation entstandenen Gewebeschädigung unterschiedlich stark betont war und durch die Qualität der initialen Organperfusion beeinflusst worden sein könnte. Daher wurden die mikrovaskulären Parameter der frühen Reperfusionsphase mit den verschiedenen Laborparametern in der ersten Woche nach Transplantation korreliert. Dabei zeigen sich positive Korrelationen des Ausmaßes der mikrovaskulären Dysfunktion in der frühen Reperfusionsperiode mit der anhand von Lipase- und Amylaseaktivitäten festgestellten

exokrinen Organschädigung und mit der im Serum gemessenen CRP-Konzentration. Weiterhin wurden positive Zusammenhänge zwischen der Qualität der kapillaren Durchblutung während der frühen Reperfusion und der postoperativen C-Peptidfreisetzung aus endokrinem Pankreasgewebe gefunden. Während des gesamten Beobachtungszeitraums korrelierte keiner der erhobenen Laborparameter (Amylase-, Lipase-, CRP-, Leukozyten- und C-Peptidwerte) mit der kalten Ischämiezeit des Organs, der Dauer zwischen dem Eintritt des Hirntods der Spender bis zur Organentnahme, dem Spenderalter bzw. der Art der Konservierungslösung.

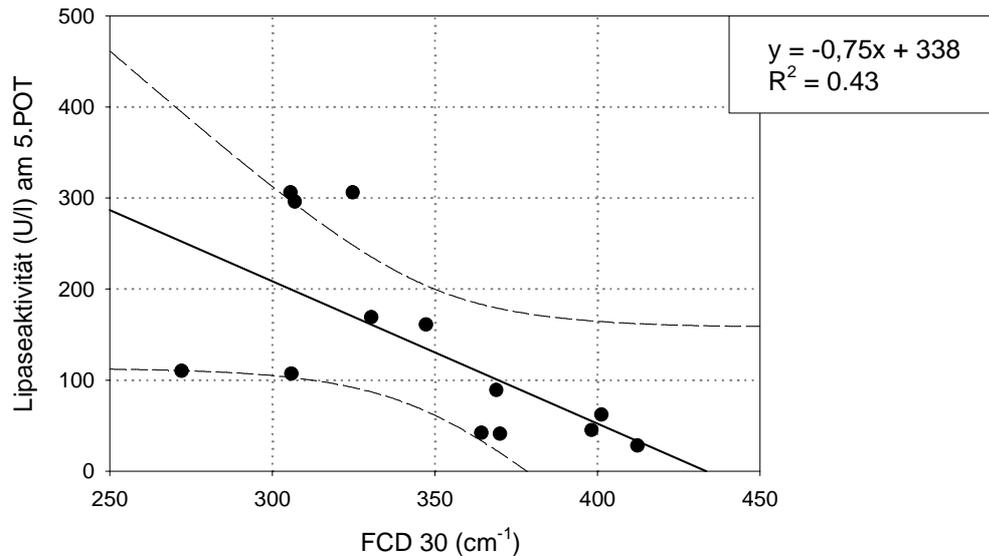
#### 4.5.1 Mikrovaskuläre Parameter nach Reperfusion und exokrine Enzymaktivitäten

a) Lipase: Die am ersten POT bestimmten Serum-Lipasewerte korrelierten positiv signifikant ( $r = 0,61$ ;  $p < 0,05$ ) mit der 30 Minuten nach Reperfusion gemessenen funktionellen Kapillardichte (FCD 30). Mit dem 3. POT erreichten die Enzymaktivitäten dann aber inverse Korrelationen zur FCD 30 (Abb. 9a) mit Signifikanz am 5. POT ( $r = -0,65$ ;  $p < 0,03$ ). Die Regressionsanalyse verdeutlichte die Art dieses inversen Zusammenhangs in Form einer Abhängigkeit der Lipaseaktivität von der initialen FCD (Abb. 9b).



**Abbildung 9a:** Zeitlicher Verlauf der Korrelation zwischen Lipaseaktivität im Serum in den Tagen 1 bis 7 nach Transplantation und den mikrovaskulären Parametern FCD (funktionelle Kapillardichte) und CBF (volumetrischer kapillarer Blutfluss) jeweils nach 5- und 30-minütiger Reperfusion,.

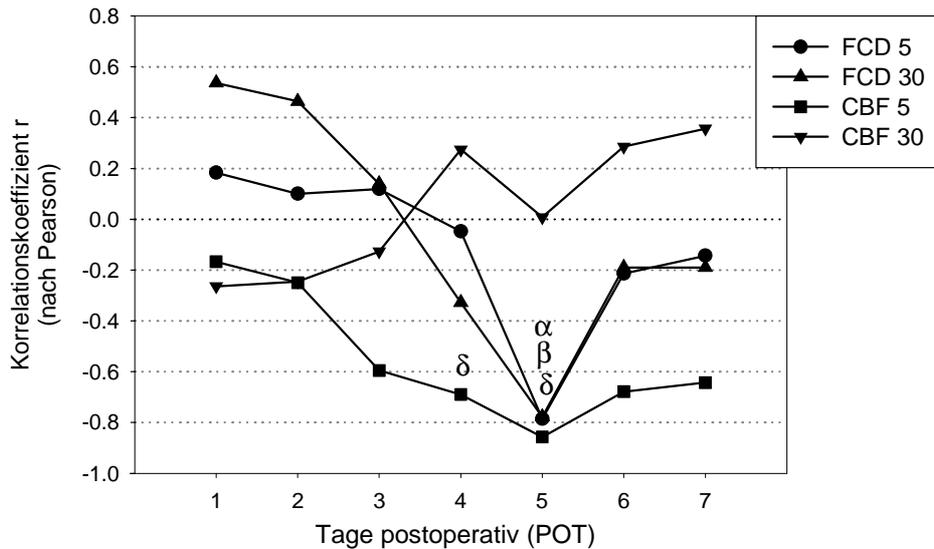
Signifikante Korrelationen:  $\beta$ :  $p < 0,05$  vs. FCD nach 30 min,  $\delta$ :  $p < 0,05$  vs. CBF nach 5 min.



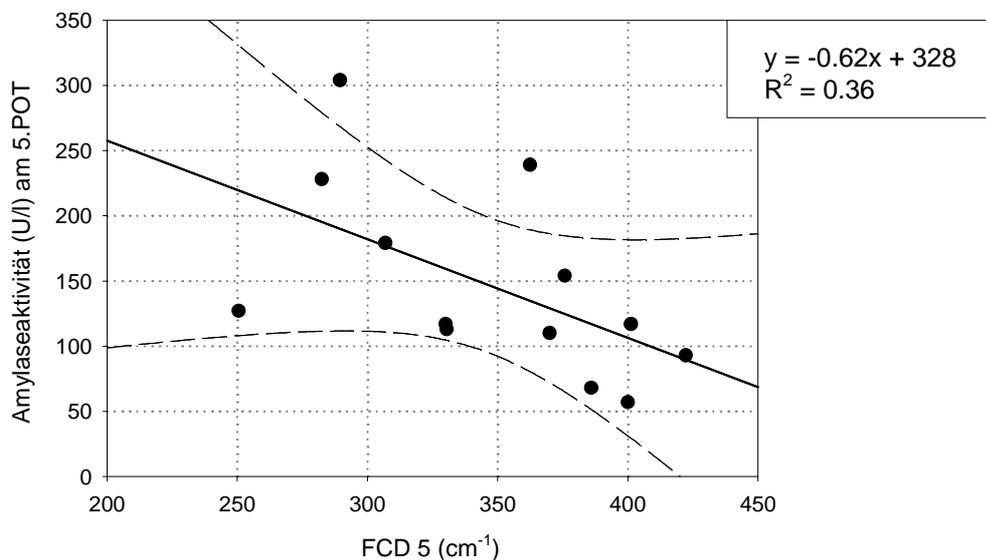
**Abbildung 9b:** Regressionsanalyse zur Darstellung der Abhängigkeit der Serum-Lipaseaktivität am 5. Tag nach Transplantation (5. POT) von der funktionellen Kapillardichte nach 30-minütiger Reperfusion (FCD 30).  $R^2$  entspricht dem Bestimmtheitsmaß. Gestrichelte Linien repräsentieren das Konfidenzintervall von 95 %.

Signifikant inverse Korrelationen wurden ebenfalls zwischen dem in der 5-Minuten-Reperfusionphase gemessenen volumetrischen Blutfluss (CBF 5) und der postoperativen Lipaseaktivität am 3. ( $p < 0,002$ ;  $r = -0,86$ ), 4. ( $p < 0,02$ ;  $r = -0,75$ ) bzw. 6. ( $p < 0,04$ ;  $r = -0,71$ ) POT festgestellt (Abb. 9a). Bei Berechnung des Korrelationskoeffizienten zwischen der 5 Minuten nach Reperfusion gemessenen FCD (FCD 5) und der postoperativen Lipaseaktivität fanden sich zwar keine signifikanten Ergebnisse, es fällt in Abb. 9a jedoch der sehr ähnliche Kurvenverlauf von  $r$  zu den beschriebenen Kurven von FCD 30 und CBF 5 auf.

**b) Amylase:** Ähnliche inverse Korrelationen wurden zwischen der Amylaseaktivität am 5. POT mit der FCD nach 5- sowie nach 30-minütiger Reperfusion ( $r = -0,79$ ;  $p < 0,03$  bzw.  $r = -0,78$ ;  $p < 0,009$ ), sowie mit dem volumetrischen kapillaren Blutfluss 5 Minuten nach Reperfusion ( $r = -0,86$ ;  $p = 0,006$ ) gefunden (Abb. 9c, d). Letzterer korrelierte zusätzlich mit der Amylaseaktivität des 4. POT ( $r = -0,69$ ;  $p < 0,05$ ).



**Abbildung 9c:** Zeitlicher Verlauf der Korrelation zwischen Amylaseaktivität im Serum in den Tagen 1 bis 7 nach Transplantation und den mikrovaskulären Parametern FCD (funktionelle Kapillardichte) und CBF (volumetrischer kapillarer Blutfluss) jeweils nach 5- und 30-minütiger Reperfusion. Signifikante Korrelationen:  $\alpha$ :  $p < 0,05$  vs. FCD nach 5 min,  $\beta$ :  $p < 0,05$  vs. FCD nach 30 min,  $\delta$ :  $p < 0,05$  vs. CBF nach 5 min.



**Abbildung 9d:** Regressionsanalyse zur Darstellung der Abhängigkeit der Serum-Amylaseaktivität am 5. Tag nach Transplantation (5. POT) von der funktionellen Kapillardichte nach 5-minütiger Reperfusion (FCD 5).  $R^2$  entspricht dem Bestimmtheitsmaß. Gestrichelte Linien repräsentieren das Konfidenzintervall von 95 %.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass in Folge einer schlechteren mikrovaskulären Situation des Transplantats im Sinne einer reduzierten Zahl funktionell durchbluteter Kapillaren (FCD) und eines geringeren pro Gefäß fließenden Blutvolumens (CBF) direkt nach Reperfusion höhere Aktivitäten der Pankreasenzyme Amylase und Lipase im Patientenserum in der ersten Woche nach dem Eingriff als Ausdruck der ischämie- und reperfusionsinduzierten exokrinen Gewebeschädigung zu verzeichnen waren.

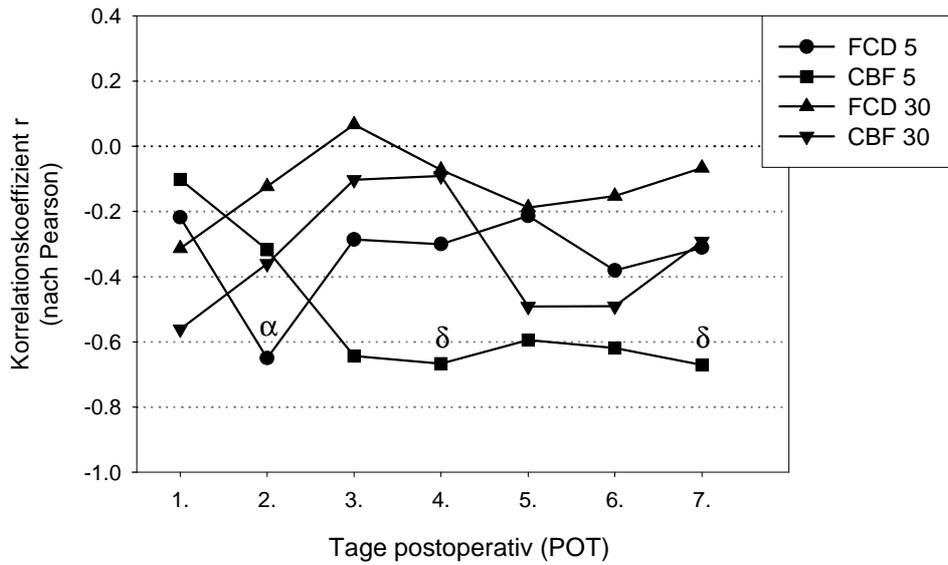
#### **4.5.2 Mikrovaskuläre Parameter nach Reperfusion und Entzündungsparameter**

a) CRP: Korrelationen und Regressionsanalysen der Plasmakonzentrationen des CRP mit den kapillaren Perfusionswerten zeigten signifikante inverse Beziehungen zwischen den erhöhten CRP-Werten am 2. POT und der FCD nach 5-minütiger Reperfusion mit  $r = -0,65$  und  $p = 0,05$  (Abb.10a, b) und weiterhin zwischen dem volumetrischen kapillaren Blutfluss 5 Minuten nach Reperfusionbeginn (CBF 5) und den Entzündungsparameterkonzentrationen am 4. ( $r = -0,67$ ;  $p < 0,05$ ) bzw. am 7. POT (Abb. 10a).

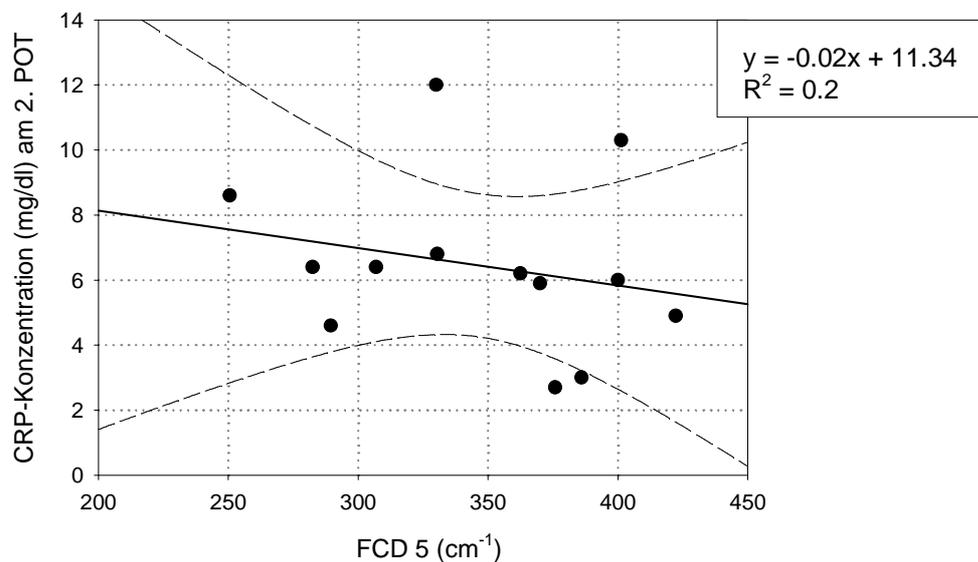
Am zweiten Tag nach Transplantation korrelierten die individuell erhöhten CRP-Konzentrationen außerdem signifikant mit sowohl den Amylaseaktivitäten (Abb. 10d) als auch mit den Lipaseaktivitäten im Serum (Abb. 10c). Die Regressionsanalysen (Abb. 10c, d) demonstrieren, dass ein Anstieg der Serum-CRP-Konzentration in den ersten Tagen nach Transplantation gegebenenfalls als geeigneter Indikator zur prognostischen Einschätzung der Entwicklung einer der Transplantatpankreatitis herangezogen werden könnte.

Während der gesamten Studienzeit in der ersten Woche nach Transplantation zeigten sich keine Korrelationen zwischen den Plasma-CRP-Konzentrationen und den C-Peptidwerten.

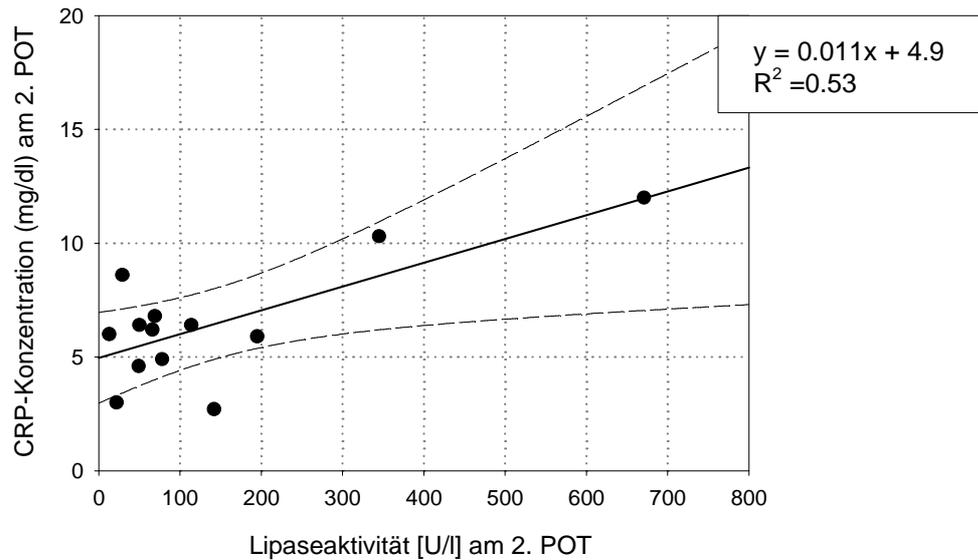
b) Leukozyten: Weiterhin wurden keinerlei Zusammenhänge zwischen dem anderen unspezifischen Entzündungsparameter, der Leukozytenzahl im Blut und allen nach Ischämie und Reperfusion erhobenen mikrozirkulatorischen Daten gefunden (keine Abbildung).



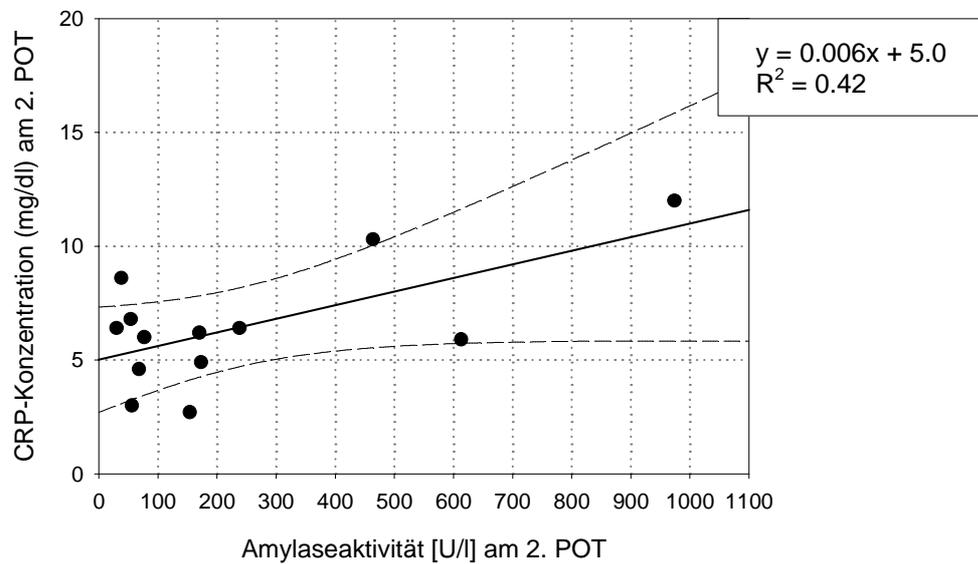
**Abbildung 10a:** Zeitlicher Verlauf der Korrelation zwischen CRP-Konzentration im Serum in den Tagen 1 bis 7 nach Transplantation und den mikrovaskulären Parametern FCD (funktionelle Kapillardichte) und CBF (volumetrischer kapillarer Blutfluss) jeweils nach 5- und 30-minütiger Reperfusion. Signifikante Korrelationen:  $\alpha$ :  $p < 0,05$  vs. FCD nach 5 min,  $\delta$ :  $p < 0,05$  vs. CBF nach 5 min.



**Abbildung 10b:** Regressionsanalyse zur Darstellung der Abhängigkeit der Serum-CRP-Konzentration am 2. Tag nach Transplantation (2. POT) von der funktionellen Kapillardichte nach 5-minütiger Reperfusion (FCD 5).  $R^2$  entspricht dem Bestimmtheitsmaß. Gestrichelte Linien repräsentieren das Konfidenzintervall von 95 %.

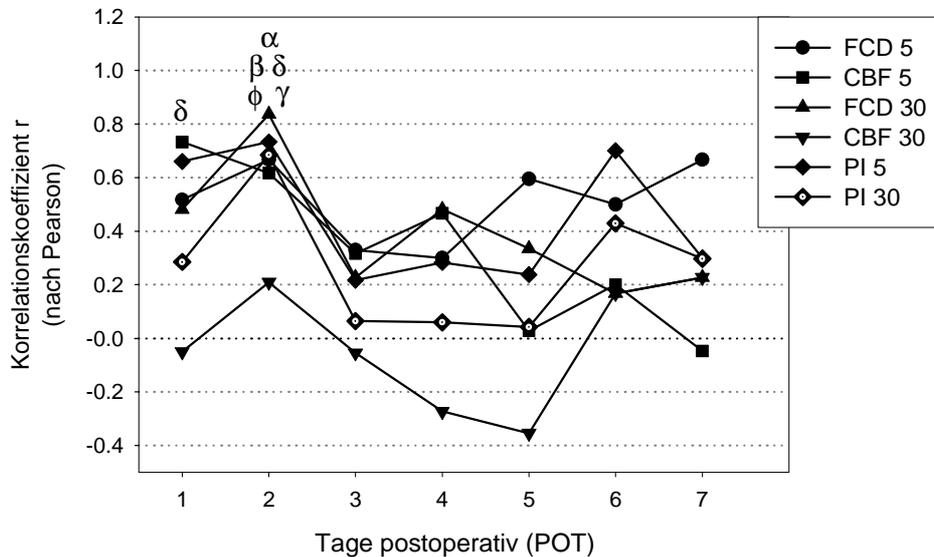


**Abbildung 10c:** Regressionsanalyse zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Serum-CRP-Konzentration am 2. Tag nach Transplantation (2. POT) und der Serum-Lipaseaktivität am 2. POT.  $R^2$  entspricht dem Bestimmtheitsmaß. Gestrichelte Linien repräsentieren das Konfidenzintervall von 95 %.



**Abbildung 10d:** Regressionsanalyse zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Serum-CRP-Konzentration am 2. Tag nach Transplantation (2. POT) und der Serum-Amylaseaktivität am 2. POT.  $R^2$  entspricht dem Bestimmtheitsmaß. Gestrichelte Linien repräsentieren das Konfidenzintervall von 95 %.

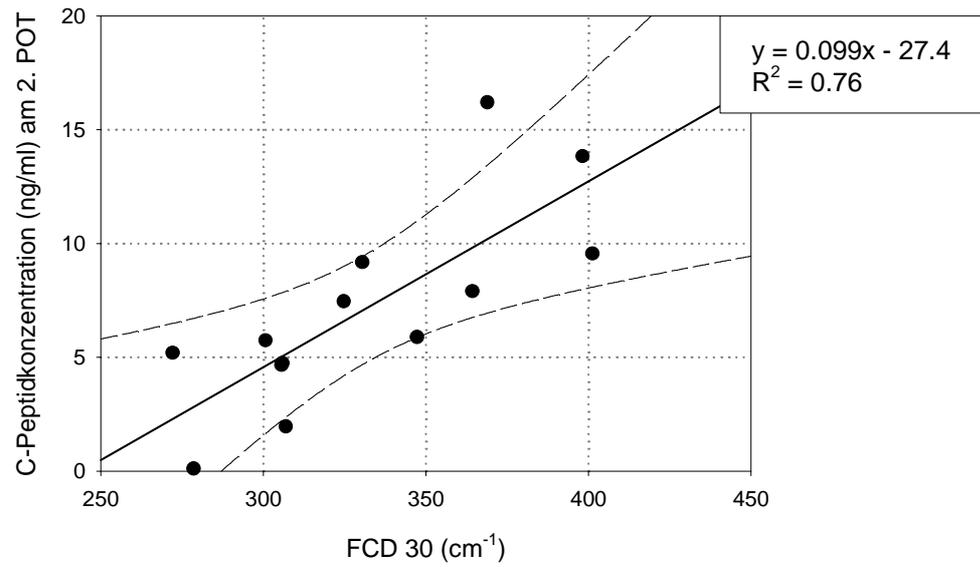
### 4.5.3 Mikrovaskuläre Parameter nach Reperfusion und C-Peptidkonzentration



**Abbildung 11a:** Zeitlicher Verlauf der Korrelation zwischen C-Peptidkonzentration im Serum in den Tagen 1 bis 7 nach Transplantation und den mikrovaskulären Parametern FCD (funktionelle Kapillardichte), CBF (volumetrischer kapillarer Blutfluss) und PI (Perfusionsindex) jeweils nach 5- und 30-minütiger Reperfusion. Signifikante Korrelationen:  $\alpha$ :  $p < 0,05$  vs. FCD nach 5 min,  $\beta$ :  $p < 0,05$  vs. FCD nach 30 min,  $\delta$ :  $p < 0,05$  vs. CBF nach 5 min,  $\phi$ :  $p < 0,05$  vs. PI nach 5 min,  $\gamma$ :  $p < 0,05$  vs. PI nach 30 min.

Zur Erfassung eventueller Auswirkungen von sich entwickelnden transplantationsbedingten Störungen der Pankreasgewebepfusion auf die  $\beta$ -Zellfunktion wurden die individuellen postoperativen C-Peptidwerte mit den Mikrozirkulationsparametern in der frühen Reperusionsphase korreliert.

Die C-Peptidwerte des 1. POT zeigten einen positiv signifikanten Zusammenhang mit dem kapillaren volumetrischen Fluss nach 5-minütiger Reperfusion (CBF 5), die C-Peptidwerte des 2. POT korrelierten dann zusätzlich auch mit den Perfusionsindices (PI) und den FCD-Werten der beiden Messzeitpunkte (Abb. 11a, b).



**Abbildung 11b:** Regressionsanalyse zur Darstellung der Abhängigkeit der Serum-C-Peptidkonzentration am 2. Tag nach Transplantation (2. POT) von der funktionellen Kapillardichte nach 30-minütiger Reperfusion (FCD 30).  $R^2$  entspricht dem Bestimmtheitsmaß. Gestrichelte Linien repräsentieren das Konfidenzintervall von 95 %.

## **5 Diskussion**

In der vorliegenden Studie wurde zum ersten Mal die humane Pankreasmikrozirkulation in gesunden Individuen intravital visualisiert und quantifiziert. Weiterhin gelang die Darstellung und Analyse der Pankreasperfusion in Patienten, die eine Pankreas-Nieren-Transplantation erhielten. Es konnte dargestellt werden, dass die angewandte Methode OPS imaging zur wiederholten intraoperativen in vivo Darstellung und nachfolgenden Analyse der strukturellen und funktionellen mikrozirkulatorischen Veränderungen während der postischämischen Reperfusionphase im Rahmen der klinischen Pankreastransplantation geeignet ist.

Die Ergebnisse der Studie zeigen weiterhin, dass mikrovaskuläre Störungen während der frühen Transplantatreperfusion den exokrinen und auch endokrinen Gewebeschädigungen vorangehen, und daher prädiktive Bedeutung für die Entstehung einer Transplantatpankreatitis besitzen.

### **5.1 Visualisierung und Analyse der Mikrozirkulation des Pankreas gesunder Individuen mittels Orthogonal Polarization Spectral Imaging**

Bisher war die intravitale Darstellung mikrovaskulärer Strukturen des Pankreas und aller anderen soliden viszerale Organe des Menschen unmöglich. Sie blieb mit den zur Verfügung stehenden Methoden auf leicht zugängliche und oberflächlich liegende Strukturen, wie Retina <sup>107</sup>, Konjunktiva <sup>108</sup> oder Haut <sup>109</sup> beschränkt. Daher existierten bislang keine quantitativen Daten, die die humane Pankreasmikrozirkulation beschreiben. Durch das nicht invasive OPS imaging gelang es zum ersten Mal, die mikrovaskuläre Perfusion des Pankreas in gesunden Leberlebendspendern intraoperativ vor der Leberteilresektion zu visualisieren und quantitativ zu analysieren. Diese Patienten waren gesund und zeigten keine klinischen, laborchemischen oder radiologischen Zeichen struktureller und/oder funktioneller Veränderungen von Bauchspeicheldrüse, Leber, Gallenblase und Gallengängen. Daher können die ermittelten Werte unter Berücksichtigung der für die Operation notwendigen Anästhesie, Beatmung und Laparotomie als normal für die Mikrozirkulation des humanen Pankreas angesehen werden. Sie könnten daher als Basis für in Zukunft durchgeführte Studien dienen, die die pathophysiologische Antwort des humanen Pankreas auf verschiedene Einflüsse und

Störfaktoren untersuchen. Damit sind insbesondere Ereignisse wie Ischämie und Reperfusion, Schock oder Infektion gemeint, von denen angenommen wird, dass sie durch die von ihnen ausgelöste inflammatorische Reaktionskette zu einer mikrovaskulären Schädigung des Pankreas führen können.

Mittels Intravitalmikroskopie wurden in zahlreichen tierexperimentellen Studien, hauptsächlich in Ratten, die mikrovaskulären Parameter des Pankreas unter Normalbedingungen ermittelt<sup>14,29,30,94,110-112</sup>. Im Allgemeinen zeigte sich die in unserer Studie gesehene Angioarchitektur und Mikrohämodynamik des humanen Pankreas mit dem typischen azinären kapillaren Netzwerk ähnlich der in Ratten beschriebenen. Wie im Tiermodell stellte sich unter Normalbedingungen ein homogenes azinäres Perfusionsmuster ohne intermittierenden Fluss oder Stase in den Kapillaren dar. Der Vergleich der Daten des humanen Pankreas mit denen in Ratten<sup>14,29,30,110-112</sup> lieferte ähnliche Werte für kapillare Diameter und für die funktionelle Kapillardichte. Davon abweichend war die Erythrozytenflussgeschwindigkeit im humanen Pankreas, bei einer gleichzeitigen Verdopplung der Heterogenität der kapillaren Perfusion, um 30 – 40 % erhöht. Aufgrund der hohen Übereinstimmung von OPS imaging und intravitaler Mikroskopie bei der Messung mikrozirkulatorischer Parameter<sup>97,99,102</sup>, sind die ermittelten Unterschiede zwischen humanen und tierexperimentellen Daten der Mikrozirkulation des Pankreas wahrscheinlich speziestypisch, und nicht durch die benutzte Methode bedingt.

Im Gegensatz zu intravitalmikroskopischen Untersuchungen in Ratten wurde bei der Anwendung von OPS imaging allerdings kein endokrines Pankreasgewebe, d.h. Langerhans-Inseln mit der für diese typischen deutlich höheren funktionellen Kapillardichte, stärker gewundenen Gefäßverläufe und einem ausgeprägteren Verzweigungsmuster im Vergleich zum exokrinen Gewebe<sup>113</sup>, gesehen. Ein Grund dafür könnte der typische lobuläre Aufbau der Strukturen des humanen Pankreas sein. Durch Anwendung computertomographieassistierter 3D-Rekonstruktion haben Watanabe und Mitarbeiter eine spezifische räumliche Anordnung von Blutgefäßen, Pankreasgangsystem und Inselzellen im Parenchym beschrieben. Es wurde gezeigt, dass die Langerhans-Inseln nicht gleichmäßig in den Lobuli verteilt liegen. Sie werden zu einem Großteil nahe den dukталen Strukturen und nicht oberflächlich unter der Kapsel gefunden<sup>114</sup>. So könnte bei der verwendeten Methode aufgrund der relativ niedrigen Eindringtiefe des linear polarisierten Lichts von nicht mehr als 200-500 µm in das Gewebe<sup>97</sup> erklärt werden, warum in der vorliegenden Studie kaum endokrines Gewebe visualisiert werden konnte. Diese Tatsache

limitiert demnach die Anwendbarkeit des OPS imaging für die transkapsuläre Darstellung von Langerhans-Inseln im humanen Pankreas.

## **5.2 Mikrovaskuläre Störungen in der frühen Reperusionsperiode nach Pankreastransplantation**

Ischämischer Insult und nachfolgende Reperfusion/Reoxygenierung, wie sie in der Transplantationschirurgie unumgänglich sind, lösen eine Anzahl verschiedener pathophysiologischer, das Organgewebe schädigender Prozesse aus. Die in der postischämischen Reperusionsphase beobachtete Störung der Mikrozirkulation ist durch zwei Mechanismen charakterisiert. Einerseits beobachtet man das unmittelbare Perfusionsversagen nutritiver Kapillaren (No-Reflow) <sup>14,23,28,39,82,115</sup>. Andererseits entsteht eine Abfolge von Reflow-Paradox assoziierten Ereignissen. Dazu gehören Aktivierung, Akkumulation und Endothelzellinteraktion von Leukozyten vor allem in postkapillaren Venolen sowie deren transendotheliale Migration und Gewebeeinfiltration <sup>14,19,20,28,40,47,56,112,115</sup>. In Zusammenhang mit diesen beiden Mechanismen stehen eine deutliche Heterogenität des nutritiven Blutflusses mit fokaler Gewebhypoxie sowie ein tief greifender Verlust der endothelialen Integrität mit Permeabilitätserhöhung, Ödembildung und mikrovaskulärer Dysfunktion <sup>13,23,25,28,41,63,116</sup>. Durch frei werdende inflammatorische Mediatoren und zytotoxische Substanzen kommt es zu einer direkten Zellschädigung und Nekroseentstehung <sup>10,15,21,27,52,58</sup>. Aktuelle tierexperimentelle Studien betonen außerdem den Beitrag einer, wiederum durch eingeschränkte kapillare Perfusion bedingten, erhöhten Apoptoserate an der Gesamtzahl untergehender azinärer Zellen <sup>117,118</sup>. Daher spielt die Störung der Mikrozirkulation eine Schlüsselrolle in der Entstehung der ischämie- und reperusionsbedingten Gewebeschädigung. Sie wird somit auch als Triggermechanismus zur Manifestation einer Transplantatpankreatitis angenommen <sup>14,15,21,27,81</sup>. Eine beeinträchtigte mikrovaskuläre Perfusion ist neben der Initiierung einer Pankreatitis auch für deren Übergang von leichten ödematösen zu schwerwiegenden hämorrhagisch-nekrotisierenden Formen als der entscheidende pathogenetische Schritt anzusehen. Dies wurde wiederholt in verschiedenen tierexperimentellen Pankreatitismodellen belegt <sup>30-35,119,120</sup>.

In der vorliegenden klinischen Studie konnten im Transplantat in den ersten 30 Minuten der Reperfusion, im Vergleich zur Mikrozirkulation des Pankreas gesunder Kontrollpatienten, eine signifikant verminderte funktionelle Kapillardichte bei erhöhter interkapillarer Distanz beobachtet werden. Weiterhin zeigte sich eine signifikant erniedrigte Erythrozytenflussgeschwindigkeit mit teilweise intermittierendem Fluss, vereinzelter kapillarer Stase und mikrovaskulärer Hämorrhagie. Diese Ergebnisse weisen auf eine deutliche Beeinträchtigung der Mikrozirkulation mit kapillarem „No-Reflow“<sup>39</sup> in den ersten Minuten der Reperusionsperiode nach elektiver Pankreastransplantation hin. Sie bestätigen damit die in vorangegangenen tierexperimentellen Pankreastransplantations- bzw. Ischämie-Reperusionsstudien erzielten Resultate<sup>14,19,20,23,25,29,47</sup>.

Als Ursache des No-Reflow wurden in anderen Untersuchungen verschiedenste Mechanismen diskutiert. Dazu gehören Endothelzellschwellung<sup>41-43</sup>, extravaskuläre Kompression durch Ödembildung<sup>41,44</sup>, intravaskuläre Hämokonzentration<sup>13,41,43</sup>, intravaskuläre Thrombose<sup>42</sup> und Leukozytenakkumulation in Kapillaren<sup>45</sup>. Ferner betonen Studien die Rolle einer Gefäßkonstriktion aufgrund der Dysbalance vasodilatierender und vasokonstringierender Substanzen<sup>47,48,50,51,65,119</sup>.

In unserer Studie konnte allerdings nicht geklärt werden, über welchen dieser Vorgänge es zum beobachteten No-Reflow in Form von ausbleibendem Blutfluss individueller Kapillaren, und damit zur signifikanten Abnahme der FCD, gekommen ist. Zwar zeigte sich in einzelnen Gefäßen eine Stase von Erythrozyten, was auf eine Hämokonzentration oder auf eine durch intravaskulären Thromben oder Leukozytenakkumulationen verursachte Erhöhung des kapillaren/venolären Flusswiderstandes hindeuten könnte. Andererseits kommen mittels OPS imaging Kapillaren, die keine Erythrozyten enthalten, auch nicht zur Darstellung. Daher kann ein völliger Verschluss derselben durch Endothelzellschwellung, extravaskuläre Kompression oder aktive Konstriktion nicht ausgeschlossen werden.

Des Weiteren wurde in unserer Studie, wie auch nach experimenteller Pankreastransplantation und in verschiedenen Pankreatitismodellen, eine deutliche Heterogenität der funktionellen kapillaren Perfusion beobachtet<sup>34,74,121</sup>. Dieses heterogene Bild entsteht durch dichte räumliche Beziehung nicht vital geschädigter Areale mit Hyperämie und gesteigerter FCD neben Arealen mit kapillarer Stase/No-Reflow und späterer Nekroseentstehung<sup>34,74,121</sup>.

Neben der Veränderung von FCD und Heterogenität der Perfusion war in unserer Studie eine signifikante Abnahme der Erythrozytenflussgeschwindigkeit nach Transplantation zu verzeichnen. Dabei zeigten sich Veränderungen allerdings nicht nur als Geschwindigkeitsverringerung. Es traten auch Phänomene wie kapillare Stase und ein intermittierender, d. h. alternierend sistierender und wieder einsetzender Blutfluss in Kapillaren auf. Diese Phänomene scheinen Studien zufolge typisch für verschiedenste pathologische Zustände mit eingeschränkter mikrovaskulärer Perfusion im exokrinen Pankreasgewebe zu sein. So wurden diese bei akuter Pankreatitis<sup>30,33</sup>, während hypotensiver Kreislauftsituation<sup>110</sup> und auch nach Transplantation<sup>23,122</sup> beobachtet. Sie waren in Untersuchungen der Pankreasmikrohämodynamik gesunder Individuen nicht vorhanden<sup>23,30,110,122</sup>. Auch in der Kontrollgruppe unserer Studie traten sie nicht auf. Somit sind sie also offensichtlich an vorhergehende Ischämie-/ Reperfusionseignisse bzw. mikrovaskuläre Perfusionsstörungen gebunden.

Entsprechend den Ergebnissen aus Untersuchungen im Rattenmodell von Vollmar und Mitarbeitern ist der intermittierende kapillare Blutfluss durch Vasomotion, d. h. periodische Konstriktion und Relaxation von präkapillaren Arteriolen bedingt<sup>110</sup>. Er dient wahrscheinlich der Aufrechterhaltung einer möglichst hohen funktionellen Kapillardichte. So wird eine wenigstens zeitweise Perfusion und damit Oxygenierung der meisten Gewebeanteile gewährleistet und damit eine permanente totale Ischämie und resultierende Anoxie ganzer Areale vermieden. Der intermittierende Blutfluss kann somit als lokaler Regulationsmechanismus verstanden werden, der dem totalen kapillaren Perfusionsversagen entgegenwirkt<sup>110,122</sup>. Er ist aber gleichzeitig durch repetitive sekundäre ischämische Phasen mit jeweils nachfolgender Reperfusion an der Manifestation und Potenzierung der Mikrozirkulationsstörung und inflammatorischen Antwort mitbeteiligt<sup>119</sup>. Über die genauen initiiierenden Mechanismen der Vasomotion ist nur wenig bekannt. Hier wird aber die Dysbalance von aus Endothel freigesetzten Stickstoffmonoxid (NO) und Endothelin mit alternierendem Überwiegen der einen oder anderen Substanz diskutiert. Diese führen dann durch entsprechende Veränderung des vaskulären Tonus zu periodischer Dilatation bzw. Konstriktion des jeweiligen Gefäßes<sup>119</sup>. In anderen Studien wurden Kalziumoszillationen über spannungsabhängige Ionenkanäle in glatten Muskelzellen der Gefäßwände vor allem der arteriolen Bifurkationen als ursächlich für die vasomotorische Aktivität gefunden<sup>122</sup>.

Die in unserer Studie im humanen Pankreas festgestellte signifikante Zunahme der kapillaren Diameter sowohl 5 als auch 30 Minuten nach Reperfusion widerspricht scheinbar

tierexperimentellen intravitalmikroskopischen Ergebnissen über postischämische Pankreasperfusion. Diese zeigten eher durchschnittlich geringere oder gleich bleibende Durchmesser der Kapillaren<sup>23,27,47</sup>. Allerdings wurde, zumindest in tierexperimentellen Untersuchungen der Mikrozirkulation quergestreifter Muskulatur, die weitere Differenzierung von Kapillaren in solche mit bzw. ohne Blutfluss nach Ischämie und Reperfusion durchgeführt. Hier wurde eine 19 prozentige Erhöhung der Durchmesser perfundierter Kapillaren im Gegensatz zu einer Verengung von Kapillaren mit ausbleibendem Blutfluss festgestellt<sup>41,123</sup>. Im Gegensatz zur Intravitalmikroskopie werden mittels OPS imaging Gefäße, die keine Erythrozyten enthalten, auch nicht dargestellt. Daher wurden in unserer Studie lediglich die Durchmesser jener Kapillaren mit Blutfluss gemessen, welche sich dementsprechend erweitert zeigten.

Die Mechanismen mikrovaskulärer Diameterkontrolle im Pankreas sind selbst im physiologischen Zustand aufgrund der Komplexität des Zusammenspiels hormoneller, neuraler und lokaler Faktoren nicht vollständig bekannt<sup>124</sup>.

Die Lumenerweiterung der perfundierten Kapillaren in der Reperusionsphase könnte als eine passive Antwort auf den plötzlich ansteigenden Perfusionsdruck angesehen werden. Dies gilt insbesondere, da die Zahl perfundierter Kapillaren aufgrund des No-Reflow deutlich geringer ist, als präischämisch. Sie könnte aber auch durch eine, in Folge der prolongierten Ischämie sowie der Denervierung des Pankreastransplantats auftretende, Störung der mikrovaskulären Reaktivität mit bedingt sein.

Weiterhin kommt eine sich rasch entwickelnde aktive Erweiterung von Kapillaren bzw. präkapillaren Arteriolen in Frage. Diese wird möglicherweise durch einen reperusionsgetriebenen Anstieg von vasodilatierenden Mediatoren unterhalten. So wird z. B. die Wichtigkeit des endogenen Stickstoffmonoxids (NO) für die mit Ischämie und Reperfusion zusammenhängenden mikrovaskulären Vorgänge immer wieder diskutiert<sup>47,49,65-68,119,125,126</sup>. Durch Ischämie-bedingten ATP-Mangel steigt die intrazelluläre Kalziumkonzentration an<sup>42,127</sup>. Dadurch könnte es zur Aktivierung der Kalzium- und Calmodulin-abhängigen Expression der NO-Synthase (NOS) kommen, die in Endothelzellen und Thrombozyten<sup>128,129</sup> vorhanden ist. Auf diesem Weg würde es dann zur verstärkten Bildung von NO kommen<sup>125</sup>. So haben Gruppen um Hotter, Pi und Mitarbeiter sowie Tanaka et al. wiederholt erhöhte Spiegel von NO-Metaboliten im Gewebe bzw. im portalvenösen und systemisch-venösen Blut nach experimenteller Pankreastransplantation oder nach Ischämie/Reperfusion gemessen<sup>67,68,125</sup>.

In weiteren Untersuchungen wurde auch eine deutliche Hochregulation von Endothelin-1 nach Reperfusion gezeigt<sup>48,64</sup>. Dieses könnte als gegenregulierender Faktor für die Konstriktion und

damit ausbleibende Perfusion (No-Reflow) anderer Kapillaren bzw. präkapillarer Arteriolen und damit, wie bereits diskutiert, für die Abnahme der FCD verantwortlich sein. Das würde wiederum für die Theorie der Dysbalance dieser beiden vasoaktiven Substanzen sprechen.

Demgegenüber wurde in anderen Studien zwar eine deutliche hyperämische Antwort in den ersten beiden Stunden der postischämischen Reperfusion beobachtet, diese war aber komplett NO-unabhängig. So wurde sie durch Gabe von NO-Donoren wie Nitroprussid-Natrium oder L-Arginin bzw. durch Anwendung von NO-Synthase-Hemmern weder verstärkt noch abgeschwächt. Erst mit Nachlassen der Hyperämie bei längerer Reperfusionsdauer von 2 bis 6 Stunden zeigten sich dann ein erhöhter Blutfluss und geringerer Gefäßwiderstand in den NO-Donor-Gruppen <sup>66</sup>. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die postischämische kapillare Vasodilatation in den ersten Minuten nach Reperfusion, wie wir sie in unserer Studie beobachtet haben, durchaus noch durch andere Ursachen und Mediatoren als NO ausgelöst wird. Dafür kommen eine Reihe weiterer inflammatorischer Mediatoren, die ebenfalls vasoaktive Eigenschaften besitzen, in Frage. So wurde die mitwirkende Rolle in der mikrovaskulären und Gewebereaktion nach Ischämie und Reperfusion bzw. Transplantation in verschiedenen Studien u.a. für Bradykinin <sup>50,51</sup> oder Arachidonsäureabkömmlinge, wie Prostacyclin <sup>59,60</sup> gezeigt.

Weiterhin ist zu bemerken, dass in unserer Studie auch eine 30-minütige Reperfusion nicht zu einer Erholung der kapillaren Dysfunktion führte. Keiner der untersuchten Parameter zeigte signifikante Veränderungen zwischen 5 und 30 min Reperfusion. Dies deutet wiederum auf eine prolongierte, den Untersuchungszeitraum überschreitende, Manifestation der durch Ischämie und Reperfusion induzierten mikrovaskulären Transplantatschädigung hin. Wie von Benz und Mitarbeitern indirekt anhand eines verminderten Sauerstoff-Gewebepartialdrucks bei erhöhter Sauerstoffsättigung des Hämoglobin im venösen Ausfluss von humanen Pankreastransplantaten dargestellt wurde, halten transplantationsassoziierte Verschlechterungen der Mikrozirkulation für mindestens eine Stunde in der Reperusionsphase an <sup>81</sup>. Untersuchungen von Keck et al. zeigten tierexperimentell anhand der kapillaren Blutflussgeschwindigkeit eine weitere deutliche Verschlechterung zwischen der ersten und sechsten Stunde der Reperfusion ohne nachfolgende Erholung am gesamten ersten postoperativen Tag <sup>19</sup>. Daher sind zukünftige Studien zur Untersuchung von Verlauf, Reversibilität bzw. Aggravation dieser mikrozirkulatorischen Defizite nach längerer Reperfusionsdauer notwendig. Dem könnten dann Untersuchungen zur Feststellung der Beeinflussbarkeit der gestörten Mikrozirkulation durch spezielle Behandlungsmethoden und des besten Zeitpunktes für deren Anwendung folgen.

Aufgrund vorangegangener experimenteller Beobachtungen ist anzunehmen, dass die anhaltend gestörte mikrovaskuläre Perfusion nicht allein durch den No-Reflow bedingt ist. Als Ursachen sind weiterhin auch mit dem Reflow-Paradox<sup>40</sup> verbundene Vorgänge im Sinne von vermehrter Leukozytenakkumulation und -adhärenz am Endothel postkapillarer Venolen und nachfolgender inflammatorischer Reaktionen<sup>14,19,20,25,29,47,112</sup> zu diskutieren. Inwiefern diese Einfluss auf die in unserer Studie beobachtete kapillare Mikrozirkulationsstörung nach Reperfusion haben, bleibt aber aufgrund der fehlenden Visualisierungsmöglichkeit von Leukozyten und zellulären Parenchymstrukturen durch OPS imaging offen.

### **5.3 Mikrovaskuläre Dysfunktion und Auswirkungen auf die exokrine Organfunktion nach Transplantation**

Es ist weithin akzeptiert, dass erhöhte Amylase- und Lipaseaktivitäten im Serum, wie sie während der akuten Pankreatitis und auch bei der Transplantatpankreatitis beobachtet werden, auf eine azinäre Zellnekrose bei zugrunde liegender Schädigung des exokrinen Pankreasgewebes hinweisen. Sie finden daher tierexperimentell und auch klinisch als Marker für eine Pankreatitis Anwendung<sup>9,14,24,50,66,68,130-132</sup>.

In unserer Studie wurde eine signifikant positive Korrelation von den FCD-Werten nach 30-minütiger Reperfusionszeit mit der Lipaseaktivität am ersten Tag nach Transplantation gefunden. Diese ist wahrscheinlich durch eine in Abhängigkeit von der Stärke der initialen kapillaren Durchblutung gesteigerte Ausschwemmung des Enzyms und anderer Substanzen aus durch das Prozedere geschädigten azinären Zellen bedingt. Sie ist damit zunächst Zeichen einer besseren Reperfusion. Nach diesem Zeitpunkt scheint der Auswaschungsprozess von Zellprodukten beendet zu sein.

Die Enzymfreisetzung in den Folgetagen zeigt dann eine inverse Beziehung zu den Mikrozirkulationswerten in der frühen Reperfusion. Dies reflektiert mit höherer Sicherheit die individuelle Schädigung exokrinen Gewebes als Resultat des beobachteten initialen kapillaren Perfusionsversagens.

Die Lipase- und Amylaseaktivitäten korrelierten neben der mikrovaskulären Dysfunktion auch mit den CRP-Werten als systemischem Entzündungsmarker. Dies deutet zusätzlich auf eine Ausweitung des durch eine beeinträchtigte Mikrohämodynamik induzierten Untergangs azinärer

Parenchymanteile zu einer Posttransplantationspankreatitis mit begleitender systemisch-inflammatorischer Antwort hin. Damit unterstützen unsere Ergebnisse die in zahlreichen anderen Studien gewonnene Erkenntnis, dass eine gestörte Mikrozirkulation in der frühen Reperfusionphase das Ausmaß einer sich entwickelnden Transplantatschädigung entscheidend mitbestimmt. Sie ist somit für die Wahrscheinlichkeit der Entstehung und die Schwere der resultierenden Pankreatitis mit verantwortlich<sup>14,15,81,82</sup>. Dieser Ansatz wird durch eine Reihe von Untersuchungen weiter belegt, die nach Gabe verschiedener Substanzen vor oder während der frühen Reperfusionphase über eine Verbesserung der mikrohämodynamischen Situation zu einer deutlich geringeren ischämie- und reperfusionbedingten Gewebeverletzung führten. So wurde z. B. durch den Einsatz von NO-Donoren<sup>47,49,126</sup> eine verbesserte Mikrozirkulation, eine gesteigerte Oxygenierung und damit auch eine reduzierte Parenchymschädigung und Lipasefreisetzung erreicht. Zu einer deutlichen Abschwächung der morphologischen Veränderungen, höherem Blutfluss und Sauerstoffdruck im Gewebe, sowie geringerer inflammatorischer Reaktion nach Pankreastransplantation führte auch die Endothelin A-Rezeptorblockade<sup>64</sup>. Weiterhin hatten die Anwendungen von Bradykininantagonisten<sup>51</sup>, löslichen komplementbindenden Rezeptoren<sup>63</sup>, N-Acetylcystein als Sauerstoffradikalfänger<sup>20</sup> oder die Blockade von Leukozyten-Adhäsionsmolekülen<sup>19</sup> ähnlich positive Auswirkungen auf die postischämische Mikrozirkulationsstörung. So wurde die Bedeutung der bereits diskutierten NO-Endothelin-Dysbalance und auch anderer nach Ischämie und Reperfusion wirksam werdender vasoaktiver und proinflammatorischer Substanzen für Mikrozirkulationsstörung und damit auch für die Entstehung einer Transplantatpankreatitis deutlich.

Bei der Diagnosestellung der Pankreatitis anhand von Amylase- und Lipaseaktivitäten muss beachtet werden, dass deren Bestimmung, insbesondere die der Amylase, eine geringe Spezifität aufweist<sup>133</sup>. Die Stärke des Anstiegs beider Parameter lässt über das genaue Ausmaß des entstehenden Organschadens sowie über die Prognose keine Aussagen zu<sup>134,135</sup>. Demgegenüber wurde in klinischen Untersuchungen festgestellt, dass die Höhe der CRP-Konzentration im Serum deutlich mit der Schwere der Pankreatitis korreliert. Sie ist daher ein verlässlicher und hoch sensitiver Vorhersageparameter für Schwere und Komplikationen einer Pankreatitis<sup>81,135,136</sup>. Nach humaner simultaner Pankreas-Nieren-Transplantation zeigten Patienten mit hohem peak-CRP, definiert als jeweils höchster CRP-Wert in den ersten 3 Tagen nach Transplantation, eine signifikant gesteigerte Rate von Pankreatitiden, Relaparotomien und Transplantatverlusten<sup>137</sup>. Demgegenüber existierten keine Korrelationen zwischen CRP-Werten und dem Auftreten von Rejektionsperioden des Pankreas oder dem Nierentransplantatüberleben.

Somit ist der peak-CRP ein hilfreicher Vorhersageparameter für das Auftreten pankreastransplantatassoziierter Komplikationen <sup>137</sup>. Benz und Mitarbeiter haben positive Zusammenhänge für den peak-CRP-Wert und die Lipaseaktivitäten im venösen Ausfluss humaner Pankreastransplantate 10, 30 und 60 Minuten nach Reperfusion demonstriert. Zusätzlich wurde eine inverse Korrelation des CRP-Spitzenwertes mit dem Sauerstoffdruck im Pankreasgewebe als Parameter für dessen nutritive Perfusion gefunden <sup>81</sup>. Diese Ergebnisse unterstützten die These, dass eine mikrovaskuläre Dysfunktion, die zu einer Schädigung des Organs führt, einem in den ersten Tagen nach Transplantation gemessenen Anstieg der CRP-Werte bzw. des peak-CRP nicht nur vorausgeht, sondern diesen auch verursacht. Dem entsprechen auch die Resultate unserer Studie, die signifikante Korrelationen der Konzentrationen des Entzündungsparameters mit den gestörten Mikrozirkulationswerten nach Reperfusion sowie mit Amylase- und Lipaseaktivitäten im Systemkreislauf am zweiten postoperativen Tag gezeigt haben. CRP-Konzentrationen im Serum könnten damit als wichtiger Indikator für die Schwere einer durch die mikrovaskuläre Dysfunktion ausgelösten Transplantatpankreatitis dienen.

Eine Reihe von Studien postulieren den Einfluss weiterer Faktoren auf die Entstehung der Transplantatpankreatitis. Dazu gehören Spendereigenschaften, wie z. B. das Spenderalter <sup>81</sup>, außerdem Ischämiezeit des Organs <sup>20,23,29</sup>, Konservierungsmethoden, operatives Vorgehen oder postoperatives Patientenmanagement <sup>11,12</sup>. Im Gegensatz dazu korrelierten in unseren Untersuchungen die erhobenen Laborwerte, insbesondere Amylase- und Lipaseaktivitäten, CRP- und C-Peptidkonzentrationen, nur mit den postoperativen Mikrozirkulationsparametern. Es fanden sich keine Zusammenhänge mit Ischämiezeit, Alter der Spender, Art der Konservierungslösung oder der Zeitdauer zwischen Eintritt des Hirntodes der Spender bis zum Beginn der Organentnahme. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die genannten Faktoren zumindest in unserer Studie nicht maßgeblich für die Schwere der entstehenden Gewebeschädigung waren. Inwieweit die fehlende Korrelation zwischen mikrovaskulären Parametern und Ischämiezeiten allerdings Folge der in unserer Serie durchweg relativ kurzen Ischämiezeiten ist, bleibt offen.

## 5.4 Mikrovaskuläre Dysfunktion und Auswirkungen auf die endokrine Organfunktion nach Transplantation

In dieser Studie wurden erhöhte C-Peptidwerte der PNTx-Patienten in der ersten Woche nach der Operation beobachtet.

C-Peptid wird physiologischer Weise in äquimolaren Konzentrationen wie das endogene Insulin aus  $\beta$ -Zellen des Pankreas sezerniert und dann, im Gegensatz zum Insulin, welches hauptsächlich hepatisch metabolisiert wird, zu einem Großteil renal eliminiert<sup>138-140</sup>. Nach Pankreas-Nierentransplantation haben die Patienten aber eine subnormale Nierenfunktion. Diese würde auch schon bei geringfügiger glomerulärer oder tubulärer Dysfunktion durch eine reduzierte metabolische Clearancerate zu einer Verlängerung der Halbwertszeit des C-Peptids und damit auch zu erhöhten Serumkonzentrationen desselben führen<sup>104,139-142</sup>.

Weiterhin zeigen Pankreastransplantatempfänger typischerweise eine Hyperinsulinämie. Diese kann einerseits, bei venöser Drainage des Pankreas in die systemische Zirkulation, durch Umgehung der Pfortader und der First-Pass-Extraktion in der Leber und damit durch eine verminderte Clearancerate des Hormons bedingt sein.<sup>104,143,144</sup> Andererseits kann eine Hyperinsulinämie nach Transplantation aber auch durch eine vermehrte basale Insulinsekretion bei erhöhtem Bedarf entstehen. Dieser resultiert aus einer, durch immunsuppressive Therapie (Glukokortikoide) induzierten, peripheren Insulinresistenz<sup>104,141,145</sup>. Eine Überreaktion der  $\beta$ -Zellen der denervierten Pankreastransplantate durch Verlust des tonisch-inhibitorischen nervalen Effekts kommt ebenfalls als mögliche Ursache einer erhöhten Hormonausschüttung in Frage<sup>146,147</sup>. Unabhängig von der Ursache führt eine vermehrte Insulinsekretion, im Gegensatz zu einer verminderten Clearancerate, dann auch zu einer entsprechend äquimolar gesteigerten Freisetzung des C-Peptids, was dessen in vorliegender Studie gemessene erhöhte Konzentrationen ebenfalls erklären könnte.

Obwohl es uns mittels OPS imaging nicht möglich war, endokrines Gewebe darzustellen, wurden starke Korrelationen fast aller gemessenen mikrovaskulären Parameter der frühen Reperfusion mit der C-Peptid-Konzentration am zweiten und teilweise auch schon am ersten Tag nach Transplantation gefunden.

Tamsma und Mitarbeiter haben eine inadäquate, d. h. stimulusunabhängige postoperative Freisetzung von C-Peptid und pankreatischem Polypeptid (PP-Peptid) in den ersten Stunden der Reperfusion nach Transplantation beschrieben<sup>148</sup>. Die C-Peptidspiegel zeigten dabei eine

signifikant positive Korrelation mit der Länge der kalten Ischämiezeit und mit im Computertomogramm beobachteten morphologischen Transplantatveränderungen. Sie wurden somit als die endokrine Gewebeschädigung widerspiegelnde Parameter diskutiert. Dementsprechend wäre die anfänglich gesteigerte Hormonfreisetzung Resultat einer passiven Degranulation geschädigter  $\beta$ -Zellen, und nicht durch Exozytose histologisch intakter Zellen bedingt<sup>148</sup>. Die Ergebnisse unserer Studie mit positiver Korrelation zwischen C-Peptid-Werten in den ersten beiden postoperativen Tagen und den mikrovaskulären Parametern unterstützen die Resultate von Tamsma und Mitarbeitern. Die bei stärkerer Pankreasperfusion gesteigerte Ausschwemmung des C-Peptids aus geschädigtem Inselgewebe in die systemische Zirkulation wäre dann der Grund der postoperativ erhöhten Konzentrationen.

Weiterhin beobachteten Tamsma et al., dass die C-Peptid- und Insulinausschüttung nach anfänglich inadäquater Freisetzung im weiteren Verlauf der Reperfusionphase zunehmend durch den Blutglucosespiegel bestimmt wurde. Hier zeigte sich also dann das Einsetzen der physiologischen Regulationsmechanismen auf die Hormonsekretion der intakt gebliebenen Inselzellen. Die Dauer bis zum Greifen dieser Mechanismen war wiederum von der Ischämiezeit abhängig<sup>148</sup>. In unserer Studie blieben die Korrelationen zwischen fast allen mikrovaskulären Parametern und den C-Peptidwerten während der gesamten ersten postoperativen Woche positiv. Allerdings könnte das Fehlen der Signifikanz in den Tagen 3 - 7 nach Transplantation für eine zunehmende Unabhängigkeit der Hormonfreisetzung von der initialen mikrohämodynamischen Situation sprechen und damit die Beobachtungen von Tamsma unterstützen. Dieser stellte das Einsetzen der physiologischen Achse mit glucoseabhängiger Insulin- und C-Peptidausschüttung bereits 3 Stunden nach Reperfusionbeginn fest<sup>148</sup>. In unserer Studie bestanden positive Korrelationen der Mikrozirkulationswerte mit den C-Peptidkonzentrationen des ersten, aber vor allem des zweiten postoperativen Tages. Alternativ zum erhöhten passiven Auswaschungsprozess aus geschädigten  $\beta$ -Zellen könnte man daher auch eine relativ gesteigerte aktive Freisetzung aus Proinsulin in endokrinem Gewebe annehmen, welches wegen geringerer initialer mikrovaskulärer Dysfunktion intakt geblieben ist. Das würde dann wiederum für einen geringeren Inselzellschaden bei weniger ausgeprägter ischämie- und reperfusionsbedingter Schädigung sprechen. In diesem Sinne haben Nankivell und Mitarbeiter eine kurze intraoperative chirurgische Anastomosierungszeit des Pankreas als einen Vorhersageparameter für gesteigerte C-Peptidwerte auch noch 3 Monate nach der Operation identifiziert. Daher nahmen auch sie eine deutliche Beeinflussbarkeit des endokrinen Gewebes durch Ischämie- und Reperfusionvorgänge an<sup>145</sup>.

Im Vergleich dazu sind Vollmar et al. zu dem Ergebnis gekommen, dass endokrines Pankreasgewebe wenig empfindlich für eine durch Ischämie und Reperfusion hervorgerufene Schädigung der Mikrozirkulation nach Transplantation ist <sup>23</sup>. Die Resultate unserer Untersuchungen legen Auswirkungen der initial gestörten mikrohämodynamischen Situation in der frühen Reperfusionsphase auf die endokrine Organfunktion nach Transplantation nahe. Allerdings könnte die fehlende Signifikanz der Korrelation von C-Peptidwerten ab dem 3. postoperativen Tag und Mikrozirkulationsparametern für eine schnelle Erholung des initial minderperfundierte endokrinen Gewebes sprechen. Dies würde die These von Vollmar und Mitarbeitern durchaus unterstützen, dass endokrines Pankreasgewebe im Vergleich zu exokrinen Anteilen weniger vulnerabel gegenüber Ischämie/Reperfusion zu sein scheint.

Das Gesagte unterstreicht die Notwendigkeit weiterer Studien zur Aufklärung von Einfluss und prognostischer Bedeutung einer initialen mikrovaskulären Dysfunktion auf die durch das Transplantat angestrebte Normalisierung des Glucosstoffwechsels.

## 6 Zusammenfassung

**Hintergrund und Ziele:** Die Transplantatpankreatitis ist eine der häufigsten Komplikationen nach Pankreastransplantation. Eine sich in der frühen postischämischen Reperfusionphase entwickelnde tiefgreifende Störung der Mikrozirkulation scheint tierexperimentellen Studien zufolge eine wichtige Rolle in der Induktion und Manifestation der Pankreatitis zu spielen. Bis zur Einführung des OPS imaging als neuer, auch intraoperativ anwendbarer Methode, war die nicht-invasive intravitale Visualisierung mikrovaskulärer Strukturen in soliden humanen Organen unmöglich. Ziel dieser Studie war es, erstmals die Mikrozirkulation des humanen Pankreas in gesunden Individuen und ihre Veränderungen in der frühen Reperfusionphase während kombinierter Pankreas-Nieren-Transplantation mittels OPS imaging *in vivo* darzustellen und quantitativ zu analysieren. Weiterhin sollte der Einfluss der mikrovaskulären Dysfunktion auf die Entwicklung einer Gewebeschädigung im Transplantat untersucht werden.

**Methoden:** Die Mikrozirkulation des humanen Pankreas in 6 gesunden Individuen, die im Rahmen einer Leber-Lebendspende operiert wurden (Kontrollgruppe), sowie in 13 Patienten mit Diabetes mellitus Typ I, die sich einer simultanen Pankreas-Nieren-Transplantation unterzogen (PNTx-Gruppe), wurde durch Anwendung von OPS imaging untersucht. Die postoperative Analyse der Mikrohämodynamik umfasste die Bestimmung von kapillaren Durchmessern (D), funktioneller Kapillardichte (FCD) sowie ihrer Heterogenität (HI-FCD), der Erythrozytenfluss-geschwindigkeit (RBCV), des individuellen kapillaren Blutflussvolumens (CBF) sowie des Perfusionsindex (PI). In der PNTx-Gruppe dienten Amylase- und Lipaseaktivitäten bzw. C-Peptidkonzentrationen im Serum in der ersten postoperativen Woche der Erfassung der exokrinen bzw. endokrinen Funktion des Transplantats. Außerdem wurden Leukozytenzahlen im Blut und CRP-Konzentrationen als systemische Entzündungsparameter ermittelt. Funktionelle Zusammenhänge zwischen früher mikrovaskulärer Dysfunktion und entstehender Gewebeschädigung nach Transplantation wurden durch Korrelation von Mikrozirkulations- und Laborparametern dargestellt.

**Ergebnisse:** Mittels OPS imaging gelang erstmals die Aufnahme qualitativ hochwertiger Bilder der Mikrozirkulation im humanen Pankreas. In den Untersuchungen des gesunden Organs zeigte sich ein homogenes azinäres Perfusionsmuster. Im Vergleich dazu stellte sich in den

Pankreastransplantaten ein deutlich heterogeneres Bild der kapillaren Perfusion dar. FCD und RBCV waren signifikant erniedrigt, die kapillaren Durchmesser signifikant höher als in der Kontrollgruppe. In der ersten Woche nach PNTx gemessene Amylase- und Lipaseaktivitäten sowie CRP-Werte, aber auch die C-Peptidkonzentrationen, korrelierten insbesondere in den postoperativen Tagen 2 - 5 signifikant mit den Mikrozirkulationswerten der frühen Reperfusionphase des Transplantats. Dies spricht für eine durch die initiale mikrovaskuläre Dysfunktion bedingte Parenchymschädigung des exo- und endokrinen Pankreas.

**Schlussfolgerungen:** Es ist uns zum ersten Mal gelungen, die intravitale mikrovaskuläre Perfusion des humanen Pankreas zu visualisieren und quantitativ zu analysieren. Das angewandte OPS imaging zeigte sich dabei als intraoperativ einfach einsetzbares Verfahren zur Gewinnung qualitativ hochwertiger Bilder. Die Ergebnisse unserer Studie sind daher ein erster basaler Schritt zur Untersuchung der intravitale Struktur und Funktion der Pankreasmikrozirkulation des Menschen. Sie könnten dem Verständnis mikrohämodynamischer Regulationsmechanismen des Organs dienen. Wir haben für die klinische Pankreastransplantation demonstriert, dass eine wesentliche kapillare Dysfunktion in der frühen Reperusionsperiode mit dem Ausmaß einer postoperativen Gewebeschädigung des Transplantats korreliert. Durch das frühe Erfassen von Störungen der nutritiven Perfusion könnte OPS imaging somit ein hilfreiches prädiktives Mittel zur Identifizierung von Patienten mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung transplantatassoziiertes Komplikationen sein. Weiterhin könnte OPS imaging tierexperimentell und in klinischen Studien zur Überwachung und zum Effektivitätsnachweis therapeutischer und präventiver Maßnahmen mit dem Ziel der Abschwächung der postoperativen Mikrozirkulationsstörung angewendet werden. Der langfristige Wert des OPS imaging für die genannten Zwecke insbesondere unter klinischen Gegebenheiten bedarf noch einer weiteren Evaluierung. Letztendlich könnte aber durch dessen Anwendung zu einer Optimierung der Pankreastransplantation und damit zu verbessertem Transplantatüberleben und gesenkter Gesamtmorbidität von Patienten beigetragen werden.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Kelly WD, Lillehei RC, Merkel FK, et al. Allograft transplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery* 1967; 61:827-37.
2. Drognitz O, Benz S, Pfeffer F, et al. Long-term follow-up of 78 simultaneous pancreas-kidney transplants at a single-center institution in Europe. *Transplantation* 2004; 78:1802-8.
3. Hopt UT, Drognitz O. Pancreas organ transplantation. Short and long-term results in terms of diabetes control. *Langenbecks Arch Surg* 2000; 385:379-89.
4. Sutherland DE, Gruessner RW, Dunn DL, et al. Lessons learned from more than 1,000 pancreas transplants at a single institution. *Ann Surg* 2001; 233:463-501.
5. Gruessner AC, Sutherland DE. Report for the international pancreas transplant registry-2000. *Transplant Proc* 2001; 33:1643-6.
6. Gruessner AC, Sutherland DE. Pancreas transplant outcomes for United States (US) and non-US cases as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of October 2002. *Clin Transpl* 2002:41-77.
7. Sollinger HW, Odorico JS, Knechtle SJ, et al. Experience with 500 simultaneous pancreas-kidney transplants. *Ann Surg* 1998; 228:284-96.
8. Troppmann C, Gruessner AC, Dunn DL, et al. Surgical complications requiring early relaparotomy after pancreas transplantation: a multivariate risk factor and economic impact analysis of the cyclosporine era. *Ann Surg* 1998; 227:255-68.
9. Fernandez Cruz L, Sabater L, Gilabert R, et al. Native and graft pancreatitis following combined pancreas-renal transplantation. *Br J Surg* 1993; 80:1429-32.
10. Büsing M, Hopt UT, Quacken M, et al. Morphological studies of graft pancreatitis following pancreas transplantation. *Br J Surg* 1993; 80:1170-3.
11. Cicalese L, Giacomoni A, Rastellini C, et al. Pancreatic transplantation: a review. *Int Surg* 1999; 84:305-12.
12. Grewal HP, Garland L, Novak K, et al. Risk factors for postimplantation pancreatitis and pancreatic thrombosis in pancreas transplant recipients. *Transplantation* 1993; 56:609-12.
13. Benz S, Schnabel R, Morgenroth K, et al. Ischemia/reperfusion injury of the pancreas: a new animal model. *J Surg Res* 1998; 75:109-15.

14. Menger MD, Bonkhoff H, Vollmar B. Ischemia-reperfusion-induced pancreatic microvascular injury. An intravital fluorescence microscopic study in rats. *Dig Dis Sci* 1996; 41:823-30.
15. Hoffmann TF, Leiderer R, Harris AG, et al. Ischemia and reperfusion in pancreas. *Microsc Res Tech* 1997; 37:557-71.
16. Schulak JA, Drevyanko TF. Experimental pancreas allograft rejection: correlation between histologic and functional rejection and the efficacy of antirejection therapy. *Surgery* 1985; 98:330-7.
17. Sibley RK, Sutherland DE. Pancreas transplantation. An immunohistologic and histopathologic examination of 100 grafts. *Am J Pathol* 1987; 128:151-70.
18. Zibari GB, Boykin KN, Sawaya DE, et al. Pancreatic transplantation and subsequent graft surveillance by pancreatic portal-enteric anastomosis and temporary venting jejunostomy. *Ann Surg* 2001; 233:639-44.
19. Keck T, Werner J, Schneider L, et al. Characterization of ischemia/reperfusion injury after pancreas transplantation and reduction by application of monoclonal antibodies against ICAM-1 in the rat. *Surgery* 2003; 134:63-71.
20. Mayer H, Schmidt J, Thies J, et al. Characterization and reduction of ischemia/reperfusion injury after experimental pancreas transplantation. *J Gastrointest Surg* 1999; 3:162-6.
21. Sakorafas GH, Tsiotos GG, Sarr MG. Ischemia/Reperfusion-induced pancreatitis. *Dig Surg* 2000; 17:3-14.
22. Warshaw AL, O'Hara PJ. Susceptibility of the pancreas to ischemic injury in shock. *Ann Surg* 1978; 188:197-201.
23. Vollmar B, Janata J, Yamauchi J, et al. Exocrine, but not endocrine, tissue is susceptible to microvascular ischemia/reperfusion injury following pancreas transplantation in the rat. *Transpl Int* 1999; 12:50-5.
24. Broe PJ, Zuidema GD, Cameron JL. The role of ischemia in acute pancreatitis: studies with an isolated perfused canine pancreas. *Surgery* 1982; 91:377-82.
25. Hoffmann TF, Leiderer R, Waldner H, et al. Ischemia reperfusion of the pancreas: a new in vivo model for acute pancreatitis in rats. *Res Exp Med (Berl)* 1995; 195:125-44.
26. Korthuis RJ, Smith JK, Carden DL. Hypoxic reperfusion attenuates posts ischemic microvascular injury. *Am J Physiol* 1989; 256:H315-9.
27. Menger MD, Vollmar B. Role of microcirculation in transplantation. *Microcirculation* 2000; 7:291-306.

28. Benz S, Wiessner R, Obermaier R, et al. Microcirculatory events in ischemia/reperfusion of the pancreas defined by continuous tissue oximetry. *Transpl Int* 2002; 15:173-9.
29. Obermaier R, Benz S, Von Dobschuetz E, et al. Characterization of microcirculatory disturbance in a novel model of pancreatic ischemia-reperfusion using intravital fluorescence-microscopy. *Pancreas* 2002; 25:142-8.
30. Plusczyk T, Westermann S, Rathgeb D, et al. Acute pancreatitis in rats: effects of sodium taurocholate, CCK-8, and Sec on pancreatic microcirculation. *Am J Physiol* 1997; 272:G310-20.
31. Klar E, Messmer K, Warshaw AL, et al. Pancreatic ischaemia in experimental acute pancreatitis: mechanism, significance and therapy. *Br J Surg* 1990; 77:1205-10.
32. Kusterer K, Enghofer M, Zandler S, et al. Microcirculatory changes in sodium taurocholate-induced pancreatitis in rats. *Am J Physiol* 1991; 260:G346-51.
33. Kusterer K, Poschmann T, Friedemann A, et al. Arterial constriction, ischemia-reperfusion, and leukocyte adherence in acute pancreatitis. *Am J Physiol* 1993; 265:G165-71.
34. Knoefel WT, Kollias N, Warshaw AL, et al. Pancreatic microcirculatory changes in experimental pancreatitis of graded severity in the rat. *Surgery* 1994; 116:904-13.
35. Bassi D, Kollias N, Fernandez-del Castillo C, et al. Impairment of pancreatic microcirculation correlates with the severity of acute experimental pancreatitis. *J Am Coll Surg* 1994; 179:257-63.
36. Massberg S, Messmer K. The nature of ischemia/reperfusion injury. *Transplant Proc* 1998; 30:4217-23.
37. Lehr HA, Guhlmann A, Nolte D, et al. Leukotrienes as mediators in ischemia-reperfusion injury in a microcirculation model in the hamster. *J Clin Invest* 1991; 87:2036-41.
38. Müller JM, Vollmar B, Menger MD. Pentoxifylline reduces venular leukocyte adherence ("reflow paradox") but not microvascular "no reflow" in hepatic ischemia/reperfusion. *J Surg Res* 1997; 71:1-6.
39. Menger MD, Steiner D, Messmer K. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "no reflow". *Am J Physiol* 1992; 263:H1892-900.
40. Menger MD, Pelikan S, Steiner D, et al. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "reflow paradox". *Am J Physiol* 1992; 263:H1901-6.
41. Menger MD, Rucker M, Vollmar B. Capillary dysfunction in striated muscle ischemia/reperfusion: on the mechanisms of capillary "no-reflow". *Shock* 1997; 8:2-7.

42. Nordback IH, Clemens JA, Chacko VP, et al. Changes in high-energy phosphate metabolism and cell morphology in four models of acute experimental pancreatitis. *Ann Surg* 1991; 213:341-9.
43. Hammersen F, Barker JH, Gidlöf A, et al. The ultrastructure of microvessels and their contents following ischemia and reperfusion. *Prog Appl Microcirc* 1989; 13:1-26.
44. Jerome SN, Akimitsu T, Korthuis RJ. Leukocyte adhesion, edema, and development of postischemic capillary no-reflow. *Am J Physiol* 1994; 267:H1329-36.
45. Schmid-Schönbein GW. Capillary plugging by granulocytes and the no-reflow phenomenon in the microcirculation. *Fed Proc* 1987; 46:2397-401.
46. Quinones-Baldrich WJ, Chervu A, Hernandez JJ, et al. Skeletal muscle function after ischemia: "no reflow" versus reperfusion injury. *J Surg Res* 1991; 51:5-12.
47. Vollmar B, Janata J, Yamauchi JI, et al. Attenuation of microvascular reperfusion injury in rat pancreas transplantation by L-arginine. *Transplantation* 1999; 67:950-5.
48. Ludwig S, Armann B, Escher E, et al. Pathomorphologic and microcirculatory changes and endothelin-1 expression in UW-and Celsior-preserved pancreata in experimental pancreas transplantation. *Transplant Proc* 2002; 34:2364-5.
49. Obermaier R, von Dobschuetz E, Muhs O, et al. Influence of nitric oxide on microcirculation in pancreatic ischemia/reperfusion injury: an intravital microscopic study. *Transpl Int* 2004; 17:208-14.
50. Hoffmann TF, Steinbauer M, Waldner H, et al. Exogenous bradykinin enhances ischemia/reperfusion injury of pancreas in rats. *J Surg Res* 1996; 62:144-51.
51. Hoffmann TF, Leiderer R, Waldner H, et al. Bradykinin antagonists HOE-140 and CP-0597 diminish microcirculatory injury after ischaemia-reperfusion of the pancreas in rats. *Br J Surg* 1996; 83:189-95.
52. Menger MD, Lehr HA, Messmer K. Role of oxygen radicals in the microcirculatory manifestations of postischemic injury. *Klin Wochenschr* 1991; 69:1050-5.
53. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988; 255:H1269-75.
54. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312:159-63.
55. Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B, et al. Role of neutrophils in ischemia-reperfusion-induced microvascular injury. *Am J Physiol* 1987; 253:H699-703.
56. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, et al. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78:651-5.

57. Kuroda T, Shiohara E, Homma T, et al. Effects of leukocyte and platelet depletion on ischemia--reperfusion injury to dog pancreas. *Gastroenterology* 1994; 107:1125-34.
58. Hotter G, Leon OS, Rosello-Catafau J, et al. Tissular prostanoid release, phospholipase A2 activity, and lipid peroxidation in pancreas transplantation. *Transplantation* 1991; 51:987-90.
59. Hotter G, Closa D, Gelpi E, et al. Role of xanthine oxidase and eicosanoids in development of pancreatic ischemia-reperfusion injury. *Inflammation* 1995; 19:469-78.
60. Pi F, Hotter G, Closa D, et al. Effect of a platelet-activating factor antagonist and desferrioxamine administration on eicosanoid production in rat pancreas transplantation. *Transplantation* 1994; 57:12-7.
61. Kuroda T, Shiohara E, Haba Y, et al. The effect of a thromboxane A2 receptor antagonist (ONO 3708) on ischemia-reperfusion injury of the dog pancreas. *Transplantation* 1994; 57:187-94.
62. Kubes P, Ibbotson G, Russell J, et al. Role of platelet-activating factor in ischemia/reperfusion-induced leukocyte adherence. *Am J Physiol* 1990; 259:G300-5.
63. von Dobschuetz E, Bleiziffer O, Pahernik S, et al. Soluble complement receptor 1 preserves endothelial barrier function and microcirculation in posts ischemic pancreatitis in the rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286:G791-6.
64. Witzigmann H, Ludwig S, Armann B, et al. Endothelin(A) receptor blockade reduces ischemia/reperfusion injury in pig pancreas transplantation. *Ann Surg* 2003; 238:264-74.
65. Hotter G, Pi F, Sanz C, et al. Endothelin mediated nitric oxide effects in ischemia-reperfusion associated with pancreas transplantation. *Dig Dis Sci* 1998; 43:2627-33.
66. Benz S, Obermaier R, Wiessner R, et al. Effect of nitric oxide in ischemia/reperfusion of the pancreas. *J Surg Res* 2002; 106:46-53.
67. Pi F, Hotter G, Closa D, et al. Differential effect of nitric oxide inhibition as a function of preservation period in pancreas transplantation. *Dig Dis Sci* 1997; 42:962-71.
68. Tanaka S, Kamiike W, Kosaka H, et al. Detection of nitric oxide production and its role in pancreatic ischemia-reperfusion in rats. *Am J Physiol* 1996; 271:G405-9.
69. Pardi R, Inverardi L, Bender JR. Regulatory mechanisms in leukocyte adhesion: flexible receptors for sophisticated travelers. *Immunol Today* 1992; 13:224-30.
70. May O. The relationship of blood supply to secretion, with especial reference to the pancreas. *J Physiol* 1904; 30:400.
71. Bennett AL, Still EU. A study of the relation of pancreatic duct pressure to the rate of blood flow through the pancreas. *Am J Physiol* 1933; 106:454.

72. Mandelbaum I, Morgan CR. Pancreatic blood flow and its relationship to insulin secretion during extracorporeal circulation. *Ann Surg* 1969; 170:753-8.
73. Lefer AM, Spath JA, Jr. Pancreatic hypoperfusion and the production of a myocardial depressant factor in hemorrhagic shock. *Ann Surg* 1974; 179:868-76.
74. Waldner H, Schmand J, Vollmar B, et al. Die Pankreasdurchblutung bei der experimentellen biliären Pankreatitis. *Langenbecks Arch Chir* 1990; 375:112-8.
75. Menger MD, Vollmar B. In vivo documentation of an arteriovenous shunt in rat pancreatic acinar tissue. *Pancreas* 1996; 13:125-9.
76. Norstein J, Lien B, Hall C, et al. Measurement of pancreas parenchyma perfusion by Laser-Doppler flowmetry. *Transplant Proc* 1990; 22:607-8.
77. Becker H, Vinten-Johansen J, Buckberg GD, et al. Correlation of pancreatic blood flow and high-energy phosphates during experimental pancreatitis. *Eur Surg Res* 1982; 14:203-10.
78. Hjelmqvist B, Ohlsson K, Aronsen KF. Protease-antiprotease imbalance, hemodynamic and regional blood flow changes in experimental pancreatitis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1986; 126:8-11.
79. Machens HG, Senninger N, Runkel N, et al. Advantages and disadvantages of using the hydrogen clearance technique to measure pancreatic blood flow. *Eur J Surg* 1992; 158:113-6.
80. Glazier G, Needham T. Proceedings: 133Xenon clearance for repeat assessment of pancreatic blood flow in the anaesthetized dog. *J Physiol* 1974; 240:32-3.
81. Benz S, Bergt S, Obermaier R, et al. Impairment of microcirculation in the early reperfusion period predicts the degree of graft pancreatitis in clinical pancreas transplantation. *Transplantation* 2001; 71:759-63.
82. Benz S, Pfeffer F, Adam U, et al. Impairment of pancreatic microcirculation in the early reperfusion period during simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Transpl Int* 1998; 11 Suppl 1:S433-5.
83. Ishida H, Makino T, Kobayashi M, et al. Laparoscopic measurement of pancreatic blood flow. *Endoscopy* 1983; 15:107-10.
84. Andrae L, Fine LG. Unravelling dropsy: From Marcello Malpighi's discovery of the capillaries (1661) to Stephen Hales' production of oedema in an experimental model (1733). *Am J Nephrol* 1997; 17:359-68.

85. Obermaier R, Benz S, Kortmann B, et al. Ischemia/reperfusion-induced pancreatitis in rats: a new model of complete normothermic in situ ischemia of a pancreatic tail-segment. *Clin Exp Med* 2001; 1:51-9.
86. Anderson MC, Schiller WR. Microcirculatory dynamics in the normal and inflamed pancreas. *Am J Surg* 1968; 115:118-27.
87. Kivisaari L. Microvasculature of the human pancreas. A microangiographic study. *Scand J Gastroenterol* 1979; 14:683-7.
88. Vollmar B, Menger MD. The use of intravital microscopy in surgical research. 26-years of experience analyzed by studies presented at the Surgical Forum of the Annual Congress of the German Society of Surgery. *Langenbecks Arch Surg* 1998; 383:282-5.
89. Muehlberger T, Homann HH, Dellon AL, et al. Augustus V. Waller and plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2001; 108:2080-5.
90. Basler A. Über die Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit in den Blutkapillaren der menschlichen Haut. *Muench Med Wschr* 1919; 13:347-348.
91. Teichmann K. Beobachtungen über Stoffaustausch im Capillargebiet mit Hilfe der intravitalen Fluoreszenzmikroskopie. *Z ges exp Med* 1942; 110:732-745.
92. Illig L. Die Kreislaufmikroskopie am Mesenterium und Pankreas des lebenden Kaninchens. *Z Exp Med* 1955; 126:249-77.
93. Klyszcz T, Junger M, Jung F, et al. Cap Image - ein neuartiges computerunterstütztes Videobildanalyse-system für die dynamische Kapillarmikroskopie. *Biomed Tech (Berl)* 1997; 42:168-75.
94. Klar E, Endrich B, Messmer K. Microcirculation of the pancreas. A quantitative study of physiology and changes in pancreatitis. *Int J Microcirc Clin Exp* 1990; 9:85-101.
95. Saetzler RK, Jallo J, Lehr HA, et al. Intravital fluorescence microscopy: impact of light-induced phototoxicity on adhesion of fluorescently labeled leukocytes. *J Histochem Cytochem* 1997; 45:505-13.
96. Bollinger A, Frey J, Jager K, et al. Patterns of diffusion through skin capillaries in patients with long-term diabetes. *N Engl J Med* 1982; 307:1305-10.
97. Groner W, Winkelmann JW, Harris AG, et al. Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation. *Nat Med* 1999; 5:1209-12.
98. Winkelmann JW. Apparatus and method for in vivo analysis of red and white blood cell indices. US Patent 4998553. 1991.

99. Harris AG, Sinitsina I, Messmer K. The Cytoscan Model E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: Comparison with the standard fluorescence method. *J Vasc Res* 2000; 37:469-76.
100. Langer S, Harris AG, Biberthaler P, et al. Orthogonal polarization spectral imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation: A validation study. *Transplantation* 2001; 71:1249-56.
101. Mathura KR, Vollebregt KC, Boer K, et al. Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation. *J Appl Physiol* 2001; 91:74-8.
102. von Dobschuetz E, Biberthaler P, Mussack T, et al. Noninvasive in vivo assessment of the pancreatic microcirculation: Orthogonal polarization spectral imaging. *Pancreas* 2003; 26:139-43.
103. Nolte D, Zeintl H, Steinbauer M, et al. Functional capillary density: An indicator of tissue perfusion? *Int J Microcirc Clin Exp* 1995; 15:244-9.
104. Christiansen E, Tibell A, Groth CG, et al. Limitations in the use of insulin or C-peptide alone in the assessment of beta-cell function in pancreas transplant recipients. Danish-Swedish Study Group of Metabolic Effect of Pancreas Transplantation. *Transplant Proc* 1994; 26:467-8.
105. Polonsky KS, Rubenstein AH. Current approaches to measurement of insulin secretion. *Diabetes Metab Rev* 1986; 2:315-29.
106. Looney SW, Stanley WB. Exploratory repeated measures analysis for two or more groups. *Am Stat* 1989; 43:220-225.
107. Korber N. Measurement of retinal blood flow in various pathological conditions by video fluorescence angiography. *Klin Wochenschr* 1986; 64:950-3.
108. Fenton BM, Zweifach BW, Worthen DM. Quantitative morphometry of conjunctival microcirculation in diabetes mellitus. *Microvasc Res* 1979; 18:153-66.
109. Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, et al. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: Melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol* 1995; 104:946-52.
110. Vollmar B, Preissler G, Menger MD. Hemorrhagic hypotension induces arteriolar vasomotion and intermittent capillary perfusion in rat pancreas. *Am J Physiol* 1994; 267:H1936-40.
111. Vollmar B, D.Preissler G, Menger MD. Small-volume resuscitation restores hemorrhage-induced microcirculatory disorders in rat pancreas. *Crit Care Med* 1996; 24:445-50.

112. Drognitz O, Liu X, Obermaier R, et al. Ischemic preconditioning fails to improve microcirculation but increases apoptotic cell death in experimental pancreas transplantation. *Transpl Int* 2004; 17:317-24.
113. Keck T, Campo Ruiz V, Warshaw AL, et al. Evaluation of morphology and microcirculation of the pancreas by ex vivo and in vivo reflectance confocal microscopy. *Pancreatology* 2001; 1:48-57.
114. Watanabe T, Yaegashi H, Koizumi M, et al. The lobular architecture of the normal human pancreas: A computer-assisted three-dimensional reconstruction study. *Pancreas* 1997; 15:48-52.
115. Obermaier R, Von Dobschuetz E, Drognitz O, et al. Ischemic preconditioning attenuates capillary no-reflow and leukocyte adherence in postischemic pancreatitis. *Langenbecks Arch Surg* 2004; 9:9.
116. Menger MD. Microcirculatory disturbances secondary to ischemia-reperfusion. *Transplant Proc* 1995; 27:2863-5.
117. Drognitz O, Liu X, Benz S, et al. Ischemia/reperfusion injury induces acinar cell apoptosis in experimental pancreas transplantation. *Transplant Proc* 2002; 34:2361.
118. Drognitz O, Obermaier R, Liu X, et al. Effects of organ preservation, ischemia time and caspase inhibition on apoptosis and microcirculation in rat pancreas transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4:1042-50.
119. Vollmar B, Menger MD. Microcirculatory dysfunction in acute pancreatitis. A new concept of pathogenesis involving vasomotion-associated arteriolar constriction and dilation. *Pancreatology* 2003; 3:181-90.
120. Menger MD, Plusczyk T, Vollmar B. Microcirculatory derangements in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001; 8:187-94.
121. Schmidt J, Ebeling D, Ryschich E, et al. Pancreatic capillary blood flow in an improved model of necrotizing pancreatitis in the rat. *J Surg Res* 2002; 106:335-41.
122. Preissler G, Massberg S, Waldner H, et al. Intermittent capillary perfusion in rat pancreas grafts following short- and long-term preservation in University of Wisconsin solution. *Transpl Int* 2006; 19:325-32.
123. Rucker M, Vollmar B, Menger MD. Association of capillary diameter response and nutritive perfusion failure in postischemic striated muscle. *Adv Exp Med Biol* 1997; 428:305-10.
124. Lewis MP, Reber HA, Ashley SW. Pancreatic blood flow and its role in the pathophysiology of pancreatitis. *J Surg Res* 1998; 75:81-9.

125. Hotter G, Closa D, Pi F, et al. Nitric oxide and arachidonate metabolism in ischemia-reperfusion associated with pancreas transplantation. *Transplantation* 1995; 59:417-21.
126. Benz S, Schnabel R, Weber H, et al. The nitric oxide donor sodium nitroprusside is protective in ischemia/reperfusion injury of the pancreas. *Transplantation* 1998; 66:994-9.
127. Hochachka PW. Defense strategies against hypoxia and hypothermia. *Science* 1986; 231:234-41.
128. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-6.
129. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, et al. On multiple forms of NO synthase and their occurrence in human cells. *Res Immunol* 1991; 142:555-61.
130. Fernandez JA, Claver MA, Llorente S, et al. Clinical noninvasive evaluation of simultaneous pancreas-kidney transplants with the combined use of gammagraphy, Doppler ultrasound, and serum markers. *Transplant Proc* 2002; 34:209-10.
131. Klar E, Rattner DW, Compton C, et al. Adverse effect of therapeutic vasoconstrictors in experimental acute pancreatitis. *Ann Surg* 1991; 214:168-74.
132. Waldner H, Vollmar B, Conzen P, et al. Enzymfreisetzung und Aktivierung der Kallikrein-Kinin-Systeme bei experimenteller Pankreatitis. Untersuchungen in Pfortaderblut, Pankreaslymphe und Peritonealexsudat. *Langenbecks Arch Chir* 1993; 378:154-9.
133. Salt WB, 2nd, Schenker S. Amylase - its clinical significance: A review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1976; 55:269-89.
134. Moossa AR. Current concepts. Diagnostic tests and procedures in acute pancreatitis. *N Engl J Med* 1984; 311:639-43.
135. Puolakkainen PA. Early assessment of acute pancreatitis. A comparative study of computed tomography and laboratory tests. *Acta Chir Scand* 1989; 155:25-30.
136. Lason A, Berling R, Ohlsson K. CRP predicts complications in pancreatitis and peritonitis. *Prog Clin Biol Res* 1989; 308:725-9.
137. Wullstein C, Drognitz O, Woeste G, et al. High levels of C-reactive protein after simultaneous pancreas-kidney transplantation predict pancreas graft-related complications and graft survival. *Transplantation* 2004; 77:60-4.
138. Faber OK, Kehlet H, Madsbad S, et al. Kinetics of human C-peptide in man. *Diabetes* 1978; 27:207-9.
139. Henriksen JH, Tronier B, Bulow JB. Kinetics of circulating endogenous insulin, C-peptide, and proinsulin in fasting nondiabetic man. *Metabolism* 1987; 36:463-8.

140. Regeur L, Faber OK, Binder C. Plasma C-peptide in uraemic patients. *Scand J Clin Lab Invest* 1978; 38:771-5.
141. Christiansen E, Andersen HB, Rasmussen K, et al. Pancreatic beta-cell function and glucose metabolism in human segmental pancreas and kidney transplantation. *Am J Physiol* 1993; 264:E441-9.
142. Blackman JD, Polonsky KS, Jaspan JB, et al. Insulin secretory profiles and C-peptide clearance kinetics at 6 months and 2 years after kidney-pancreas transplantation. *Diabetes* 1992; 41:1346-54.
143. Gaber AO, Shokouh-Amiri MH, Hathaway DK, et al. Results of pancreas transplantation with portal venous and enteric drainage. *Ann Surg* 1995; 221:613-22.
144. Diem P, Abid M, Redmon JB, et al. Systemic venous drainage of pancreas allografts as independent cause of hyperinsulinemia in type I diabetic recipients. *Diabetes* 1990; 39:534-40.
145. Nankivell BJ, Chapman JR, Bovington KJ, et al. Clinical determinants of glucose homeostasis after pancreas transplantation. *Transplantation* 1996; 61:1705-11.
146. Elahi D, Clark BA, McAloon-Dyke M, et al. Islet cell responses to glucose in human transplanted pancreas. *Am J Physiol* 1991; 261:E800-8.
147. Nauck M, Busing M, Siegel EG, et al. Consequences of systemic venous drainage and denervation of heterotopic pancreatic transplants for insulin/C-peptide profiles in the basal state and after oral glucose. *Diabetologia* 1991; 34:S81-5.
148. Tamsma JT, Schaapherder AF, van Bronswijk H, et al. Islet cell hormone release immediately after human pancreatic transplantation. A marker of tissue damage associated with cold ischemia. *Transplantation* 1993; 56:1119-23.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
CBF (5 bzw. 30)	capillary blood flow = volumetrischer kapillarer Blutfluß (5 bzw. 30 Minuten nach Reperfusionsebeginn)
C-Peptid	connecting peptide
CRP	C-reaktives Protein
D (5 bzw. 30)	kapillarer Durchmesser (5 bzw. 30 Minuten nach Reperfusionsebeginn)
etCO <sub>2</sub>	endtidal carbon dioxide tension
FCD (5 bzw. 30)	functional capillary density = funktionelle Kapillardichte (5 bzw. 30 Minuten nach Reperfusionsebeginn)
HI-FCD (5 bzw. 30)	Heterogenitätsindex der funktionellen Kapillardichte (5 bzw. 30 Minuten nach Reperfusionsebeginn)
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
LLTx	Leberlebendtransplantation
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
OPS imaging	Orthogonal Polarization Spectral imaging = orthogonale Reflexspektrophotometrie
PAF	platelet activating factor
PI (5 bzw. 30)	Perfusionsindex (5 bzw. 30 Minuten nach Reperfusionsebeginn)
PNTx	kombinierte Pankreas-Nieren-Transplantation
POT (1-7)	(1. – 7.) postoperativer Tag
PTT	partielle Thromboplastinzeit
RBCV (5 bzw. 30)	Red Blood Cell Velocity = Erythrozytenflussgeschwindigkeit (5 bzw. 30 Minuten nach Reperfusionsebeginn)
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TNF	tumor necrosis factor
vs.	versus

## Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei Labortätigkeiten, Bild- und Datenerhebung, Verfassung und Fertigstellung meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

Zunächst gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Neuhaus für die Möglichkeit, an der von ihm geführten Klinik für Allgemein- Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité, Campus Virchow-Klinikum promovieren zu dürfen.

Weiterhin bin ich Herrn Prof. Dr. med. U. Settmacher für die Etablierung und intraoperative Anwendung der Methode OPS imaging während klinischer Pankreastransplantationen, insbesondere während der so kritischen frühen Reperfusionphase des Organs, zu großem Dank verpflichtet.

Ganz besonders möchte ich an dieser Stelle auch meinem Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. med. K.D. Schaser für die freundliche Überlassung des hochinteressanten Themas danken. Mit seiner Begeisterung für die neue Möglichkeit der intravitale Visualisierung mikrovaskulärer Perfusion humaner Organe mittels OPS imaging weckte er mein Interesse für Mikrozirkulation und deren Veränderungen im Rahmen krankhafter Prozesse, wie der ischämie- und reperfusionsbedingten Gewebeschädigung. Er stand mir für Fragen und Probleme im Rahmen der Arbeit trotz seiner umfangreichen klinischen Tätigkeit immer mit Rat und konstruktiver Kritik zur Seite. Weiterhin bin ich ihm und Herrn Priv.-Doz. Dr. med. G. Puhl für ihr intraoperatives Engagement bei der Aufnahme der Bilder, die Einarbeitung in Analysetechniken der Mikrozirkulation und die Hilfe bei Datenerhebung, statistischer Auswertung und Erstellung der Arbeit zu großem Dank verpflichtet. Ich freue mich sehr über die gelungene Veröffentlichung unserer Ergebnisse im American Journal of Transplantation.

Ich möchte mich auch bei allen anderen in der Klinik für Transplantationschirurgie Beschäftigten und den Mitarbeitern des Transplantationsbüros für die kooperative Zusammenarbeit bedanken. Sie ermöglichten mir die schnelle und unproblematische Einsichtnahme in Patientenakten. Gleiches gilt für die Beschäftigten des Zentrallabors, insbesondere Herrn Böckel, der mir stets sehr bereitwillig und auch in Situationen mit hohem Zeitdruck alle benötigten Daten zugänglich machte.

Nicht zuletzt danke ich Herrn D. Pust für seine große Unterstützung während der gemeinsamen experimentellen Arbeit.

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

## **Erklärung**

Ich, Katrin Köhler, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die Mikrozirkulation des humanen Pankreas in der frühen Reperfusion nach Pankreastransplantation und ihre Bedeutung für die exokrine und endokrine Organfunktion“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.