

Aus der Klinik für Chirurgie,
Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinikum
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Erweiterung der Spenderpopulation bei
Lebertransplantation: Klinischer Bedarf und Entwicklung
eines Kleintier-Lebermaschinenperfusionssystems**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Simon Moosburner

aus Datteln

Datum der Promotion:

18. September 2020

INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRACT	3
EINFÜHRUNG	5
METHODIK	6
KLINISCHER TEIL	6
<i>Spenderdaten</i>	6
<i>Klassifikation nach Alter und Steatosis Hepatis</i>	6
<i>Organakzeptanz und Organempfänger*innen</i>	7
TIEREXPERIMENTELLER TEIL	8
<i>Versuchstiere</i>	8
<i>Explantation der Rattenlebern</i>	8
<i>Entwicklung eines geeigneten Reaktoraufbaus</i>	8
<i>Probenentnahme</i>	11
<i>Histologische Aufarbeitung</i>	11
STATISTIK	11
ERGEBNISSE	12
KLINISCHER TEIL	12
<i>Steatosis Hepatis, Spenderalter und der Rückgang der Organakzeptanz</i>	12
<i>Steigendes Spenderalter und höhere Raten an Steatosis Hepatis</i>	13
<i>Korrelation des Spender- und Empfängeralters</i>	13
<i>Höhere Raten an früherer Minderfunktion und Retransplantation</i>	13
EXPERIMENTELLER TEIL	16
<i>Perfusionsparameter</i>	16
<i>Laborchemische Ergebnisse</i>	16
<i>Histologische Auswertung</i>	16
DISKUSSION	18
LITERATURVERZEICHNIS	20
EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG UND ANTEILSERKLÄRUNG	23
ANTEILSERKLÄRUNG AN DEN ERFOLGTEN PUBLIKATIONEN	24
AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN	25
LEBENS LAUF	56
KOMPLETTE PUBLIKATIONS LISTE	59
DANKSAGUNG	60

ABSTRACT

Hintergrund. Für Patienten*innen mit fortgeschrittenen Lebererkrankungen stellt die Lebertransplantation derzeit die einzige kurative Therapieoption dar, allerdings deckt die Verfügbarkeit an geeigneten Spenderorganen nicht den Bedarf. Aus diesem Grund müssen sogenannte marginale Organe akzeptiert werden, die mit schlechteren Ergebnissen nach Transplantation assoziiert sind. Die normotherme *ex vivo* Maschinenperfusion stellt eine Möglichkeit zur Evaluierung der Organfunktion und potentiell therapeutischer Intervention vor Transplantation dar. Zuverlässige Kleintiermodelle zur Erprobung verschiedener Perfusionsbedingungen und pharmakologisch wirksamen Agenzien sind nur vereinzelt publiziert. Ziel dieser Arbeit war einerseits, die aktuelle Relevanz der Steatosis hepatis und des Alters in der Spenderpopulation zu analysieren und andererseits, einen experimentellen therapeutischen Ansatz im Kleintiermodell zu realisieren.

Methodik. Im klinischen Teil dieser Arbeit erfolgte eine retrospektive Datenanalyse aller 2652 Leberangebote an die Charité – Universitätsmedizin Berlin von 2010 bis 2016. Ausgewertet wurden Akzeptanz- und Ablehnungskriterien sowie die Ergebnisse nach Lebertransplantationen. Im experimentellen Teil der Arbeit wurde ein *ex vivo* Maschinenperfuisionsmodell für Ratten-Lebertransplantate entwickelt und evaluiert.

Ergebnisse. Insgesamt wurden im Analysezeitraum 80,2% der Organgebote abgelehnt, wobei Organe von Spender*innen ≥ 65 Jahre seltener vermittelt wurden als von jüngeren. Die Rate an Lebertransplantationen, die aufgrund von Steatosis hepatis nicht realisiert werden konnten, stieg von 2010 mit 14,7% auf 63,6% im Jahr 2016, während die Gesamtprävalenz der Steatosis hepatis von 20,3% auf 30,8% zunahm. Das 1- und 3-Jahres-Überleben war weder nach Lebertransplantation alter noch steatotischer Transplantate reduziert. Es zeigte sich jedoch eine erhöhte Rate *früher Minderfunktion* bei steatotischen Transplantaten und eine höhere Retransplantationsrate bei Organen von Spendern ≥ 80 Jahre. Das flusskontrollierte normotherme *ex vivo* Maschinenperfuisionsmodell der Rattenleber basierte auf einem proprietären Glasgefäß, einem Oxygenator und einem Perfusat aus Kulturmedium supplementiert mit Rattenerythrozyten. Die Integration eines separaten Dialysekreislaufs konnte eine signifikante Reduktion des Kaliums im Perfusat erzielen. Durch Hinzunahme von Glycin wurde, gemessen an der Hämatoxylin-Eosin und Einzelstrang-DNA-Färbungen, eine Minimierung des Gewebsschadens erreicht. Bei Lebertransplantaten, welche nach Herzstillstand entnommen worden waren, führte die Kombination von Dialyse und Glycin zu einer signifikanten Reduktion der Alanin-Aminotransferase im Perfusat.

Diskussion. Alte Spender*innen und Spender*innen mit Steatosis hepatis nehmen an Relevanz in der Spenderpopulation zu. Aus Mangel an Alternativen stellen sie eine aussichtsreiche Möglichkeit zur Erweiterung des Spenderpools dar, mit dem Risikos einer *frühen Minderfunktion* und einer erhöhten Retransplantationsrate. Ein Kleintier *ex vivo* Lebermaschinenperfuisionsmodell, könnte genutzt werden, um Konzepte zur Einschätzung und Konditionierung marginaler Organe vor Transplantation zu evaluieren.

Background. Liver transplantation is currently the treatment of choice for patients with end-stage liver disease. The imbalance between supply and demand of liver allografts in Germany necessitates the acceptance of marginal organs, which are associated with poorer outcome after transplantation. Normothermic *ex vivo* liver machine perfusion is one option to evaluate organ quality and therapeutically intervene before transplantation. Only few small animal models to evaluate perfusion settings and pharmacological agents have been published. The objective was to firstly characterize the relevance of steatosis hepatitis and donor age in the donor pool and secondly develop a therapeutic approach in a small animal model.

Methods. In the clinical part of this work, a retrospective analysis of all 2652 liver offers to the Charité – Universitätsmedizin Berlin from 2010 to 2016 was performed. Acceptance and rejection criteria as well as the outcome after transplantation were analyzed. In the experimental part, an *ex vivo* machine perfusions system for the perfusion of rat livers was developed and evaluated.

Results. During the respective time period, 80.2% of organ offers were declined. Organs from donors ≥ 65 years were allocated less frequently than from younger donors. Liver transplantations which were not realized, due to steatosis hepatitis of the graft, increased from 14.7% in 2010 to 63.6% in 2016, while overall prevalence rose from 20.3% to 30.8. The 1- and 3-year patient survival was not reduced after transplantation of older or steatotic grafts. However, recipients of steatotic grafts were more likely to develop *Early Allograft Dysfunction* (EAD) and recipients of older donor grafts ≥ 80 years more often required a retransplantation. The pressure controlled normothermic *ex vivo* liver machine perfusion model was based on a proprietary glass receptacle, an oxygenator, and culture medium perfusate supplemented with rat erythrocytes. The addition of a dialysis resulted in reduced potassium and liver cell damage. Combining the dialysis with glycine resulted in the least cell damage in the hematoxylin-eosin and single-strand DNA stainings. Livers retrieved after *cardiac death* showed a reduction of alanine-aminotransferase levels when perfused with a dialysis and glycine.

Discussion. Older donors and grafts with steatosis hepatitis are increasing in relevance. Due to the lack of suitable alternatives, these allografts currently represent an opportunity to expand the donor pool. However, EAD and higher rates of retransplantation still necessitate cautious acceptance policies. *Ex vivo* liver machine perfusion with optimized perfusion settings could assist in evaluating organs before transplantation to reduce complications.

EINFÜHRUNG

Für Patient*innen mit fortgeschrittenen Leberkrankungen stellt die Lebertransplantation aktuell die einzige kurative Therapieoption dar. Insbesondere in den letzten Jahren sind in Deutschland die Spenderzahlen um fast 40% gesunken, wobei im Jahr 2017 lediglich 797 Spender*innen gemeldet wurden, wovon 674 (84,6%) Lebertransplantationen im In- und Ausland realisiert werden konnten [10]. Im Vergleich mit anderen *Eurotransplant*-Mitgliedsländern liegt Deutschland mit 10,4 realisierten Organspendern pro Millionen Einwohner deutlich unter dem Durchschnitt, und weit hinter den 38,6 realisierten Spender*innen in Kroatien [10]. Die Gründe hierfür sind multifaktoriell und beruhen in Teilen auf einer mangelnden Spendebereitschaft nach dem Organallokationsskandal 2012 in Deutschland, aber auch in einem Erkennungs- und Meldedefizit in den Entnahmekrankenhäusern [41, 43]. Für Letzteres wurde ein Gesetz zur Verbesserung der Zusammenarbeit und Strukturen bei der Organspende (GZSO) entworfen, das im April 2019 in Kraft treten soll und die Entnahmekrankenhäuser selbst sowie ausreichend Zeit für einen Transplantationsbeauftragten finanziert [11]. Unabhängig von der Verbesserung der institutionellen Rahmenbedingungen gibt es weitere Ansätze zur Vergrößerung der Spenderpopulation. Der Ausbau der Leberlebendspende und die Akzeptanz von Organen, deren Spender*innen erweiterte Spenderkriterien erfüllen, gehören dazu [36]. Spender*innen erfüllen laut *Eurotransplant* u.a. erweiterte Spenderkriterien ab einem Alter ≥ 65 Jahre, bei erhöhten Leberzellschädigungsparametern und bei einer Steatosis Hepatis.

Solche vorgeschädigten Organe sind jedoch häufiger mit schlechteren Ergebnissen nach Transplantation assoziiert [1, 13, 30]. Dabei spielen die *primäre Nichtfunktion* und die sogenannte *frühe Minderfunktion*, eine übergeordnete Rolle [33]. Die nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH), als hepatische Manifestation des metabolischen Syndroms, ist mittlerweile in den USA sogar der zweithäufigste Grund für eine Lebertransplantation und ist bei bis zu 46% der Gesamtbevölkerung ausgeprägt [7, 44]. Für die USA wird bis 2030 ein Rückgang der Akzeptanzrate von Lebertransplantaten aufgrund von Steatosis hepatis von zurzeit 78% auf 44% prognostiziert [35]. Spender*innen höheren Alters sind wiederum im *Eurotransplant*-Raum mittlerweile die schnellste wachsende Gruppe. Vom Jahr 2000 bis 2017 verdoppelte sich die Rate an verwendeten Spendern über 65 Jahren auf insgesamt 26,6% [8]. Die Ergebnisse nach Transplantation älterer Spenderorgane sind heterogen, wobei bislang strittig bleibt, ob und welche Grenzwerte für ein Spenderalter gesetzt werden können [16, 38]. Insgesamt besteht sowohl bei Transplantation älterer Spenderorgane und Organen mit einer Steatosis hepatis ein erhöhtes Risiko für einen Ischämie-Reperfusionsschaden, vor allem in Kombination mit einer langen Kaltischämiezeit [18, 21, 25]. Eine mögliche Alternative zur statischen hypothermen Konservierung bei 4°C stellt hierbei die *ex vivo* Maschinenperfusion dar [2]. Unterschiedliche Konzepte zur Perfusionstemperatur haben sich dabei etabliert. Eine Perfusion bei 4°C ermöglicht ein Aufrechterhalten der Mikrozirkulation, dies führt zu einer weniger starken Akkumulation von Stoffwechselmetaboliten und zu einem geringeren zellulären oder biliären Schaden [28]. Die logistisch aufwendigere normotherme Perfusion bei 37°C mit Sauerstoffträgern sorgt für eine kontinuierliche metabolische Aktivität des Organs und ermöglicht so die Evaluierung eines

vorgeschädigten Organs [27]. Die meisten tierexperimentellen Versuche zur Evaluierung und Optimierung dieser Perfusionsmodelle erfolgen derzeit in Großtiermodellen, vor allem im Schwein, und sind dementsprechend teuer sowie logistisch anspruchsvoll [26, 27]. Standardisierte, reproduzierbare Kleintier-Lebermaschinenperfusionsmodelle zur Erprobung verschiedener Perfusionsbedingungen und pharmakologisch wirksamer Agenzien unter normothermen Bedingungen sind in der Literatur zurzeit nicht beschrieben.

Ziel dieser Arbeit war es daher einerseits, die aktuelle Relevanz der Steatosis hepatis und des Alters in der Spenderpopulation zu analysieren und andererseits, einen experimentellen Ansatz zu realisieren, der zur Erprobung von Perfusionskondition zur Reconditionierung solcher Organe dienen konnte.

METHODIK

Klinischer Teil

Spenderdaten

Die Spenderdaten aller der Charité – Universitätsmedizin angebotenen Lebertransplantate im Zeitraum von 2010 bis 2016 wurden bei Eurotransplant angefragt und ausgewertet. Die retrospektive Datenauswertung wurde durch die Ethikkommission der Charité (EA2/010/17) genehmigt und an der Chirurgischen Klinik, Campus Charité Mitte | Campus Virchow-Klinikum durchgeführt. Ein Patient wurde aus der Auswertung hinsichtlich des Spenderalters ausgeschlossen, da die Datendichte nicht ausreichte und zusätzlich vorher bereits eine Nierentransplantation erfolgt war [32]. Hinsichtlich des Spenderalters verblieben 2652 Lebertransplantate, die der Charité – Universitätsmedizin Berlin im Zeitraum 2010 bis 2016 angeboten wurden.

Erfasste Spenderdaten waren dabei das Spenderalter, der Body Mass Index (BMI), der Hepatitis-B-(HBV) und Hepatitis-C-(HCV)-Status, die Aspartat-Aminotransferase (AST), die Alanin-Aminotransferase (ALT), die Gamma-Glutamyltransferase (GGT), der International Normalized Ratio (INR), das C-reaktive Protein (CRP), das Serumnatrium, ein bekannter Diabetes Mellitus in der Anamnese, Nikotinabusus, Reanimation der Spender*innen, Todesursache, Dauer des Intensivaufenthaltes vor Spendermeldung, Steatosis hepatis im Ultraschall, in der Computertomographie (CT) oder in der histopathologischen Begutachtung. Außerdem wurde ausgewertet, ob die Leber entnommen wurde, die Vermittlung erfolglos war oder ob das Organ transplantiert wurde.

Klassifikation nach Alter und Steatosis Hepatis

Für die Untersuchungen hinsichtlich Steatosis hepatis [31] wurden zwei Gruppen gebildet: Es wurden zum einen alle Fälle von Steatosis hepatis erfasst (Ultraschall, CT oder histopathologischen Befund), zum anderen nur die im *Donor Report* von *Eurotransplant* histopathologisch bestätigten Fälle. Die histopathologisch bestätigten Fälle mit zusätzlichen Befunden in der Transplantationsakte wurde nach der prozentualen makrovesikulären Steatosis hepatis klassifiziert: < 5% "keine Steatose", < 30% "leichte Steatose", ≥ 30% "moderate Steatose", und ≥ 60% "schwerwiegende Steatose" [4, 6].

Die Einteilung nach Spenderalter orientierte sich an den erweiterten Spenderkriterien von *Eurotransplant* (Alter > 65 Jahre, mehr als 7 Beatmungstage, einem BMI > 30, makrovesikulärer Steatosis hepatis > 40%, Serumnatrium > 165mmol/l, ALT >105U/l, AST > 90U/l und Bilirubin > 3mg/dl). Es wurde unterschieden zwischen jüngeren Spendern (< 65 Jahre alt) und älteren Spendern (≥ 65 Jahre alt). Im weiteren Verlauf erfolgte zusätzlich eine Subgruppenanalyse aller Spender*innen ≥ 80 Jahre.

Organakzeptanz und Organempfänger*innen

Im Transplantationsbüro der Charité werden die Ablehnungsgründe aller eingehenden Organe protokolliert. Diese Ablehnungsgründe wurden klassifiziert in medizinische Gründe bei Spender*innen, Größe oder Gewicht Spender*innen/Empfänger*innen-Missverhältnis, medizinische Gründe bei den Empfänger*innen, logistische Gründe und sonstige Gründe. Die medizinischen Gründe bei Spender*innen wurden hierbei weiter subklassifiziert in Alter, Laborparameter, Reanimation, Steatosis hepatis, Infektion, maligne Geschehen, intravenöser Drogenabusus sowie Intensivliegezeit vor Spendermeldung und sonstige Gründe. Die zur Auswertung herangezogenen Daten wurden aus den Akten des Transplantationsbüros und aus einer bereits bestehenden Datenbank aller Lebertransplantationen der Charité – Universitätsmedizin erhoben. Im Falle einer Organtransplantation wurde der *Model for Endstage Liver Disease* (MELD) Score herangezogen, der sich aus Bilirubin, INR und Kreatinin zusammensetzt [15]. Zusätzlich wurde aus dem Produkt aus MELD und Spenderalter (MELD * Spenderalter) der D-MELD berechnet [23]. Zur Beurteilung des Risikos eines Transplantatversagens wurde der *Donor Risk Index* (DRI) erhoben, „regional“ waren Angebote aus der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) Spenderregion Nordost, Angebote aus dem restlichen *Eurotransplant*-Raum „nationale“ Angebote [14]. Zur Erfassung des postoperativen Verlauf nach Lebertransplantation wurden die Laborparameter AST, ALT, INR und Bilirubin erfasst, welche in die Berechnung der *frühen Minderfunktion* einfließen [33]. Eine *frühe Minderfunktion* wurde definiert als ein Bilirubin ≥ 10mg/dl oder ein INR ≥ 1,6 am siebten postoperativen Tag oder eine AST/ALT >2000U/l innerhalb der ersten sieben postoperativen Tage. Eine *primäre Nichtfunktion* eines Transplantats wurde definiert als irreversibles Transplantatversagen, welches innerhalb der ersten zehn postoperativen Tage zum Versterben oder zur notfallmäßigen Retransplantation der Empfänger*innen führte. Die Nachverfolgung des Überlebens nach Lebertransplantation erfolgte über die Transplantationsambulanz der Chirurgischen Klinik Charité Mitte und Virchow-Klinikum, in der die Patient*innen in regelmäßigen Abständen vorstellig werden, sodass eine Aussage über das 3-Jahres Überleben getroffen werden konnte.

Tierexperimenteller Teil

Versuchstiere

Im Rahmen der Versuche wurden insgesamt 24 männliche Ratten vom Typ Wistar mit einem Gewicht von 280 bis 350g verwendet. Die Tiere wurden von Janvier (Le Genest-Saint-Isle, Frankreich) bezogen und im Rahmen den von dem Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin genehmigten Tierversuchsanträge T301/17 und O0365/11 verwendet. Nach einer minimalen Akklimatisationszeit von einer Woche wurden die Tiere randomisiert einer der sechs Versuchsgruppen mit jeweils vier Ratten pro Versuchsgruppe zugeteilt. Primär galt es, die Auswirkung der Dialyse im Perfusionskreislauf (D) und des Glycins (G) im Perfusat zu untersuchen (G-|D-; G+|D-; G-|D+; G+|D+) [17]. Zusätzlich repräsentierten zwei Gruppen ein Modell zur *Organentnahme nach Herztod* (DCD), wobei hier nur die Negativkontrolle (keine Dialyse oder Glycin; DCD G-|D-) und Positivkontrolle (DCD G+| D+) analysiert wurden.

Explantation der Rattenlebern

Nach Einleitung der Narkose mit Isofluran und anschließender subkutaner Injektion von Metamizol (100mg/kg Tiergewicht) und Ketamin (12mg/kg Tiergewicht) wurden die Versuchstiere unter fortlaufender Isofluran-Zufuhr auf dem Operationstisch positioniert. Die ausreichende Tiefe der Narkose wurde durch Setzen eines Schmerzreizes zwischen den Hinterpfoten durch eine chirurgische Pinzette geprüft. Anschließend erfolgten die großzügige Laparotomie und Mobilisierung der Leber. Weiterhin wurde eine proprietäre Kanüle in den Gallengang eingeführt und die korrekte Lage anhand des Ausflusses von Galle kontrolliert. Darauf erfolgte die Präparation der V. cava und A. abdominalis und die Injektion von 500IE Heparin (Rotexmedica, Trittau), gelöst in 1ml Ringer Laktat Lösung, in die V. cava. Die A. abdominalis wurde mit einer 18G Flexüle (B.Braun, Melsungen) kanüliert und Vollblut zur späteren Verwendung entnommen. Das Diaphragma wurde eröffnet und die A. thoracica geklemmt, im Anschluss wurde die V. portae mit einer 16G Flexüle (B.Braun) kanüliert und die Leber mit 4°C kalter Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat (HTK) (Custodiol, Dr. Franz Köhler Chemie, Bensheim) Lösung gespült mit je 20ml über die Kanüle in der A. abdominalis und V. portae. Hierbei wurde in der Versuchsgruppe mit Glycin ebenfalls 12mM Glycin dem HTK zugemischt. Daraufhin erfolgte die Kanülierung der V. cava inferior direkt unterhalb der Leber mit einer in der Arbeitsgruppe entwickelten 10Ch Kanüle, die aus einem kleinen Silikonschlauch und einem Luer-Lock Adapter bestand. Im Falle der *Organentnahme nach Herztod* (DCD)-Gruppe wurden die Versuchstiere in Isofluran Narkose finalisiert und anschließend ein suprapelviner Zugang zur A. abdominalis zur Blutentnahme gewählt. Nach Blutentnahme wurde eine 30-minütige warme Ischämiephase abgewartet, bevor das Abdomen vollständig eröffnet wurde und nach Spülung der A. abdominalis V. portae mit 10ml NaCl 0,7%-Lösung die oben genannten Schritte erfolgten (angelehnt an das Model von Schlegel et al.[40]).

Entwicklung eines geeigneten Reaktoraufbaus

Als Grundlage für das *ex vivo* Rattenleberperfusionsmodell wurde ein speziell angefertigtes Glasgefäß genutzt (Gaßner Glastechnik, München). Der innere Durchmesser

maß 100mm und bot Platz für eine Silikonmatte (**Abb. 1**), auf der die Rattenleber positioniert werden konnte. Das Glasgefäß war mit fünf GL 14 normierte Schraubauslässen zu den Seiten und nach unten ausgestattet. An diese wurden kurze Silikonschläuche mit Luer-Steck Adapter angeschlossen, an die wiederum die Kanülen der Lebergefäße und des Gallengangs angeschlossen werden konnten. Der Schaltkreis bestand im Kern (**Abb. 1A**) aus dem Glasgefäß und einem Silikonmembran-Oxygenator mit einem Füllvolumen von 10mL (Radnoti LTD, Dublin, Irland), der mit 90% Sauerstoff begast wurde. Eine Blasenfalle wurde zum Verhindern von Luftembolien zwischengeschaltet und der Kreislauf von einer steuerbaren Rollerpumpe (Cole-Parmer, Wertheim), kombiniert mit einem Drucksensor und einer Geschwindigkeit von 1ml/min/g Lebergewicht angetrieben. Die Druckmessungen wurden kontinuierlich mit einem angeschlossenen Computer via BDAS 2.0 (Hugo Sachs Elektronik - Harvard Apparatus, March-Hugstetten) aufgezeichnet. Die Perfusion erfolgte über sechs Stunden bei einer Umgebungstemperatur von 37°C, die durch die Platzierung in einem Wärmeschrank realisiert wurde. Das Perfusat im Kreislauf bestand zu Beginn der Entwicklung aus 250ml Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Biochrom GmbH, Berlin) 100µg/ml Penicillin und Streptomycin (Biochrom), 4mM L-glutamine/L-alanine (Biochrom), 1µM human Insulin (Lilly GmbH, Bad Homburg, Deutschland), 14ng/ml Glukagon (GlucaGen®, Novo Nordisk Pharma GmbH, Mainz) 1µM Dexamethasone (Fortecortin®, Merck KGaA, Darmstadt) und 500IE Heparin [39]. Nach sechs Stunden Perfusion mit reinem Medium zeigten sich erhebliche Nekrosen, weshalb im nächsten Schritt Rattenerythrozyten als Sauerstoffträger dem Medium zusätzlich hinzugefügt wurden (**Abb. 1B**). Rattenerythrozyten wurden aus zentrifugiertem Vollblut gewonnen (3200rpm, 4°C für 15min) und der Plasmaüberstand als frisches gefrorenes Plasma zur späteren Verwendung weggefroren. Der Buffy Coat wurde abgesaugt und verworfen. Die verbliebenen Erythrozyten wurden dem DMEM Medium zugeführt. Die Rattenerythrozyten und die Verkleinerung des Reaktorvolumens auf insgesamt 80ml verbesserte die Perfusionsergebnisse. Die Zugabe von Rattenerythrozyten führte zu einem Anstieg des Kalium auf bis zu 16,2mmol/l, weshalb der Perfusionskreislauf um eine parallel geschaltete Dialyse erweitert wurde (**Abb. 1C**), wobei hier das wieder auf 100ml gestiegene Volumen vom Hauptkreislauf über einen Dreiwegehahn mit einer festen Geschwindigkeit von 10ml/min abgeleitet wurde. Auf der Dialysat Seite der Dialysemembran sorgten eine Inflow und Outflow Rollerpumpe (Cole-Parmer, Wertheim) für den Fluss von 500ml Dialysat. Das Ci-Ca Dialysat (Fresenius Kabi, Bad Homburg) wurde zusätzlich mit 500IE Heparin substituiert und floss in ein Reservoir. Im finalen Schritt (**Abb. 1D**) wurde das Reaktorvolumen auf 50ml halbiert, maßgeblich durch das Verwenden von Heidelberger Verlängerungsschläuchen mit einem kleineren Durchmesser (innerer Durchmesser 1,2mm, Länge 30cm) und einer Dialysekartusche mit geringerem Füllvolumen von 2ml (Membranfläche 115cm², 30kDa Molekülgewichtsgrenze; Spectrum Laboratories, Rancho Dominguez, CA, USA). Das Perfusat (50ml DMEM) wurde nun mit 12,5ml rattenspezifischem Plasma supplementiert sowie mit 10ml Rattenerythrozyten für ein Zielhämatokrit von 20%. Zusätzlich wurde ein Perfusor eingeführt, welcher mit 500IE/h Heparin bei allen Versuchen und in den Versuchsgruppen mit Glycin zusätzlich mit 45mg/h Glycin lief.

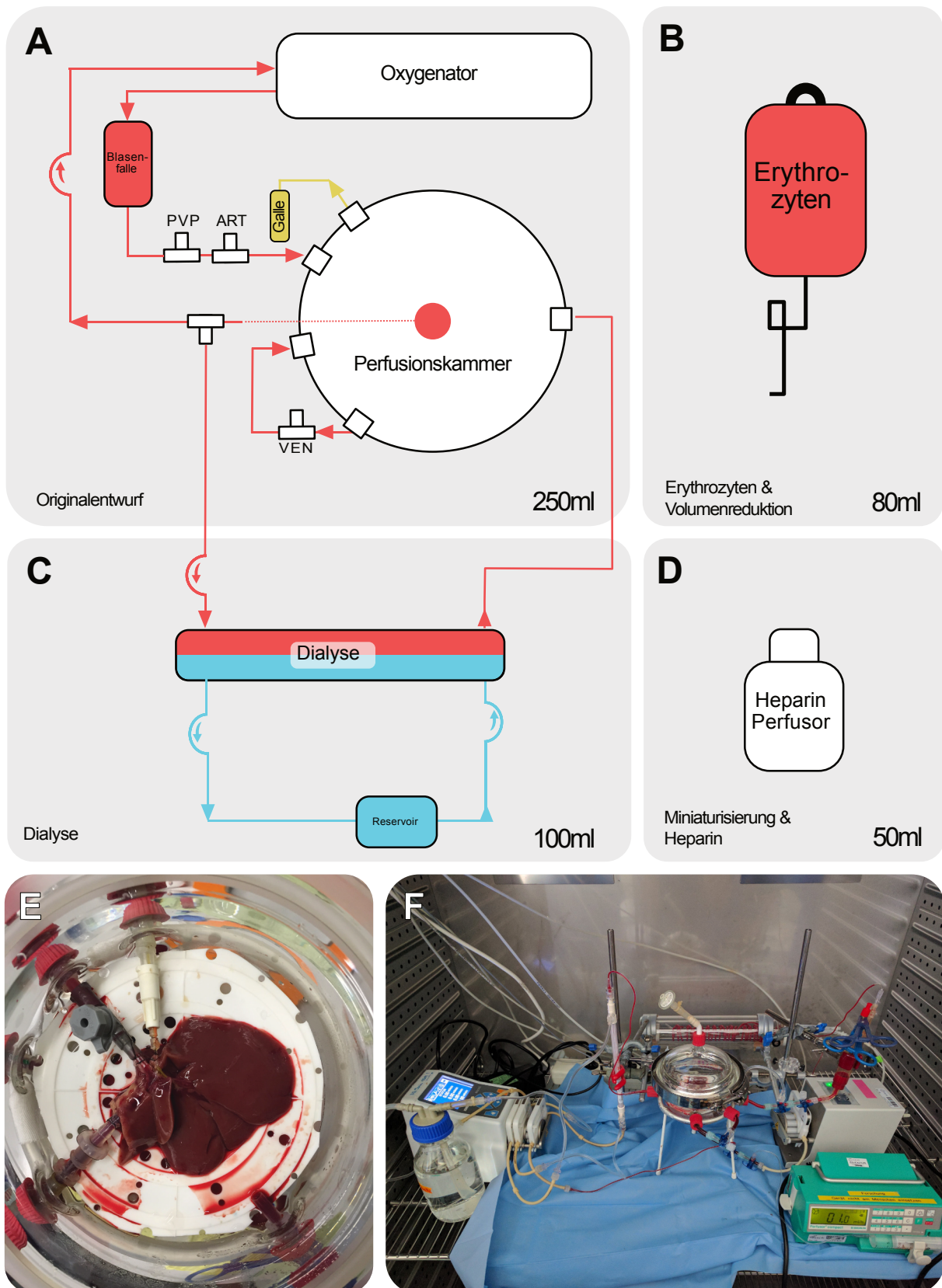


Abb. 1: (A) Originalentwurf des Perfusionskreislaufes mit 250ml. (VEN = venös; ART = arteriell; PVP = Portalvenöser Druck) (B) Hinzunahme von Erythrozyten und Volumenreduktion (C) Parallel geschalteter 500ml Dialyse Kreislauf (D) Finale Hinzunahme von Heparin (E) Aufsicht auf den Perfusionsreaktor (F) Perfusionskreislauf in der Übersicht [17]

Probenentnahme

Über zwei Dreivegehähne im Kreislauf wurde eine Entnahme von oxygeniertem „arteriellen“ (ART) und sauerstoffarmem „venösem“ (VEN) Blut ermöglicht (**Abb. 1**). Zu festgesetzten Zeitpunkten (Start der Perfusion, drei Stunden und sechs Stunden) wurde Probenmaterial aus dem Perfusat und Dialysat entnommen. Dabei wurde jeweils 1ml genommen, bei 4°C über 10 Minuten bei 10.000 Umdrehungen pro Minute herunterzentrifugiert, der Überstand zu einer Hälfte mittels Blutgasanalyse (ABL800 Flex, Radiometer GmbH, Berlin) analysiert und zur anderen Hälfte an das Labor Berlin (Charité Vivantes GmbH) zur Bestimmung der ALT, Urea, des Bilirubins und freien Hämoglobins gesandt. Die Galle wurde während der Perfusion extern in ein vorgewogenes 1,5ml fassendes Kryokonservierungsgefäß ausgeleitet, stündlich gewechselt und im Anschluss gewogen.

Histologische Aufarbeitung

Nach Abschluss der Perfusion wurden die Rattenlebern jeweils mit 20ml Ringer-Laktat-Lösung gespült und darauffolgend jeder einzelne Lappen in mehrere Stücke kryokonserviert, sowie ein weiteres kleines Stück pro Lappen in 4% Formalin für mindestens 48 Stunden fixiert. Es folgte eine aufsteigende Alkoholreihe zur Entwässerung von 50% bis 99% Alkohol und eine anschließende Xylol Behandlung. Das entwässerte Gewebe wurde schließlich in Paraffin eingebettet und in 2µm Schnitten auf die Objektträger aufgetragen. Für die Hämatoxylin-Eosin Färbung wurde in typischer Weise das Gewebe wieder entparaffinisiert, acht Minuten in Mayer Hämalaun-Lösung gefärbt und acht Minuten unter fließendem lauwarmem Wasser differenziert. Dem folgte 30 Sekunden Gegenfärben mit Eosin (beides AppliChem, Darmstadt). Pro Versuch wurde jeder der fünf H.E. gefärbten Rattenleberlappen einzeln von einer Oberärztin des Instituts für Pathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin hinsichtlich Nekrose und sinusoidaler Dilatation bewertet. Diese Ergebnisse wurden von eigenen DNA-Einzelstrang-Färbungen unterstützt. Dabei wurden nach gleichem Prinzip die Schnitte entparaffinisiert und in PBS mit 0,2mg/ml Sapoin und 20µg/ml Proteinase K 20 Minuten lang bei Raumtemperatur permeabilisiert und bei 56°C mit 50% Formamid inkubiert. Danach folgte die Blockierung der endogenen Peroxidase in 3% H₂O₂. Mit einer Verdünnung von 1:10 wurde der monoklonale anti-ssDNA Antikörper F7-26 (Enzo Life Sciences Inc., Farmingdale, NY, USA) aufgetragen, gefolgt von einem monoklonalen anti-Maus IgM Antikörper (Cell Signaling Technology, Leiden, Niederlande). Abschließend wurde 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) appliziert und mit Hämatoxylin gegengefärbt. Alle mikroskopischen Aufnahmen wurden mit einem Zeiss Axio Observer Z1 Mikroskop durchgeführt und mit der Software Zen Pro 2.3 ausgewertet (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena).

Statistik

Mit IBM SPSS Statistics für macOS in der Version 24.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) erfolgte die systematische statistische Auswertung; wissenschaftliche Abbildungen wurden mit GraphPad Prism Version 6.04 für macOS (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) erstellt. Als signifikant wurden *P*-Werte <0,05 erachtet. Kategorische Vari-

ablen sind sowohl in ihrem prozentualen Anteil als auch in absoluten Zahlen wiedergegeben und wurden mit dem *Pearsonschen Korrelationskoeffizienten* verglichen. Kontinuierliche Variablen wurden auf Normalverteilung mit dem *Shapiro-Wilk-Test* geprüft. Parametrische kontinuierliche Variablen sind als Mittelwert und Standardabweichung beschrieben und wurden mit Hilfe des *t-Test für unabhängige Stichproben* oder des *One-Way ANOVA* bei Gruppenvariablen verglichen. Nichtparametrische Variablen wurden als Median und Interquartilsabstand (IQR) oder mit Minimum und Maximum dargestellt, die Testung erfolgte mit dem *Wilcoxon-Rangsummentest* oder einem *Kruskal-Wallis-Test* bei Gruppenvariablen.

Die *Kaplan-Meier-Analysen* zum Patientenüberleben und Transplantatüberleben nach Transplantation steatotischer Organe oder Organen von älteren Spender*innen wurde für den Überlebenszeitraum ein Jahr, respektive drei Jahre nach Transplantation durchgeführt und mithilfe des *log-rank Tests* verglichen. Eine binäre logistische Regressionsanalyse zur Identifizierung von Faktoren, die zur Leberakzeptanz beitragen, wurde ebenfalls durchgeführt. Dafür wurden die kontinuierlichen variablen Spenderalter und Spender*innen BMI umcodiert. Alter wurde in die Gruppen < 50 Jahre und über 50 Jahre in: 50-59, 60-69, 70-79, >80 eingeteilt. BMI wurde ähnlich klassifiziert: < 18,5; 18,5-24,9; 25-29,9; 30-34,9; 35-39,9; >40.

ERGEBNISSE

Klinischer Teil

Steatosis Hepatis, Spenderalter und der Rückgang der Organakzeptanz

In unserem Zentrum wurden im Analysezeitrum von 2010 bis 2016 insgesamt 2652 Lebertransplantate von *Eurotransplant* angeboten. Insgesamt wurden 2126 (80,2%) dieser Angebote abgelehnt, wovon wiederum 1561 (73,4%) an andere Zentren vermittelt und dort transplantiert wurden (**Tabelle 1**). Insgesamt konnten 565 Lebern (26,6%) nicht vermittelt werden und verblieben zum Großteil ($n=304$; 53,8%) *in situ* und wurden nicht entnommen. Medizinische Gründe bei Spender*innen führten in 74,1% (1023) zur Ablehnung, wobei hiervon das Spenderalter in 48,9% ($n=500$) der Fälle ausschlaggebend war. Von diesen Organen konnten noch 126 (25,2%) weitervermittelt werden. Im Fall von Organakzeptanz älterer Spender*innen erfolgte dies häufiger im Rahmen von Rescue oder Extended- Allokation Verfahren (75 Organe, 46,3%) als bei jüngeren (129 Organe, 35,4%; $p=0,02$).

Zur Identifizierung von Faktoren, die zur Leberakzeptanz beitragen haben, wurde eine binäre logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Dabei wurden der BMI, die Todesursache, Nikotinabusus, Diabetes mellitus, AST, GGT, Bilirubin, INR, Kreatinin, HCV, HBV und histopathologischer Nachweis einer Steatosis hepatis berücksichtigt. Das Modell war statistisch signifikant ($\chi^2(4) = 119,2$ $p<0,001$) und erklärte 40,2% (Nagelkerke R^2) der Varianz in der Organakzeptanz, wobei das Modell 78,8% der Fälle korrekt klassifizierte. Eine makrovesikuläre Steatosis hepatis <5% war mit höherer Wahrscheinlichkeit einer Organakzeptanz assoziiert ($p<0,001$; Odds Ratio 16,68; 95% Konfidenzintervall = 5,01–55,43). Außerdem standen im Zusammenhang mit der Organakzeptanz die Serumparameter Kreatinin, AST, Bilirubin, der HCV-Status und ein jüngeres Spenderalter.

Über den Analysezeitraum zeigte sich ein steigender Trend zur Ablehnung älterer Organe. Während 2010 102 Lebern transplantiert und 40 wegen des Spenderalters abgelehnt wurden, wurden 2016 insgesamt 160 ältere Organe abgelehnt, bei 66 Transplantationen. Ein vergleichbarer Trend konnte bei der Ablehnung aufgrund der Steatosis hepatis des angebotenen Organs gezeigt werden, hier wurde ein Anstieg von 15 abgelehnten Lebertransplantaten 2010 zu 42 Lebern im Jahr 2016 verzeichnet ($p < 0,001$).

Steigendes Spenderalter und höhere Raten an Steatosis Hepatis

Die Spendercharakteristika wurden nach Allokation analysiert, d.h. je nachdem, ob die Organe transplantiert wurden, vermittelt wurden und extern transplantiert wurden, oder nicht vermittelt werden konnten. Wesentliche Unterschiede waren dabei die Todesursache und vor allem die Laborparameter AST, GGT, Bilirubin, INR sowie Kreatinin, die alle signifikant höher in der Gruppe der nicht vermittelten Organe waren ($p < 0,001$) (**Tabelle 1**). Das Spenderalter unterschied sich zwischen den Gruppen außerdem signifikant ($p < 0,001$) und war mit $56 \pm 21,3$ Jahren bei den Gruppen der nicht vermittelten Organe am höchsten. Insgesamt blieb das Spenderalter in der Spenderpopulation über die Zeit konstant (2010: 52,4 Jahre; 2016: 53,4 Jahre). Das Alter der 526 an der Charité – Universitätsmedizin transplantierten Organe stieg im Mittel jedoch von 49,3 Jahren (2010) auf 57,3 im Jahr 2016 ($p = 0,02$). Im Gegensatz dazu stieg sogar die Gesamtprävalenz der Steatosis hepatis in allen Organgeboten von 20,3% ($n = 63$) im Jahr 2010 auf 30,8% ($n = 186$) 2016. Dies spiegelte sich ebenso in den transplantierten Organen wider, wobei hier 2010 22,3% ($n = 22$) eine Steatosis hepatis aufwiesen und sich der relative Anteil bis 2016 mehr als verdoppelte (51,5 %; $n = 34$). Alter und Steatosis hepatis wiesen dabei eine signifikante Koinzidenz auf; bei 39,5% ($n = 289$) der älteren Spender*innen wurde eine Steatosis hepatis nachgewiesen, verglichen mit lediglich 21,3% ($n = 376$) bei jüngeren Spendern.

Korrelation des Spender- und Empfängeralters

Es zeigte sich ein linearer Zusammenhang zwischen Empfänger- und Spenderalter. Empfänger*innen älterer Organe waren signifikant älter als Empfänger*innen jüngerer Spenderorgane (Spearman's $R = 0,29$; $p \leq 0,001$). So hatten diese Empfänger*innen älterer Organe auch, gemessen durch den MELD, im Mittel eine besser verbliebene Leberfunktion (16 vs. 20; $p = 0,005$). Ebenso war auch das Produkt aus MELD und Spenderalter (D-MELD) niedriger bei Empfänger*innen jüngerer Spenderorgane (871 vs. 1226, $p < 0,001$) (**Tabelle 2**). Der DRI, als globalerer Parameter des Risikos eines Transplantatversagens, war niedriger bei jüngeren Organen (2,2 vs. 2,8; $p < 0,001$).

Höhere Raten an früherer Minderfunktion und Retransplantation

Es konnte ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer *frühen Minderfunktion* und dem Steatosis hepatis Grad des Transplantats hergestellt werden: Es kam bei 13 Patient*innen (21,3%) mit keiner, bei 23 (39%) mit leichter und bei neun Patient*innen (56,3%) mit moderater oder schwerwiegender Steatosis hepatis des Transplantats zu einer *frühen Minderfunktion* ($p = 0,013$). Bei einer Kaltischämiezeit länger als acht Stunden und einer moderaten Steatosis hepatis entwickelten sogar 69,2% ($n = 9$) der

Patient*innen eine *frühe Minderfunktion*. Das Transplantatüberleben war außerdem signifikant durch eine *frühe Minderfunktion* reduziert ($p < 0,001$) (**Abb. 2A**), wohingegen die Steatosis hepatis keinen direkten Einfluss hatte (**Abb. 2B**). Nur eine schwerwiegende Steatosis hepatis hatte einen direkten Einfluss auf das Transplantatüberleben ($p = 0,03$; 33,3% vs. 75%). Das 3-Jahres-Patientenüberleben nach Transplantation älterer Organe war mit dem Überleben nach Transplantation jüngerer Organe vergleichbar (74% vs. 73,4%; $p = 0,84$). Lediglich bei Transplantaten von ≥ 80 -jährigen Spender*innen war das Transplantatüberleben signifikant eingeschränkt ($p = 0,04$) (**Abb. 2C&D**). Empfänger*innen von sehr alten Spenderorganen ≥ 80 Jahre benötigten häufiger eine Retransplantation ($n = 6$; 28,6% vs. $n = 17$; 7,1%; $p = 0,005$) als die von jüngeren.

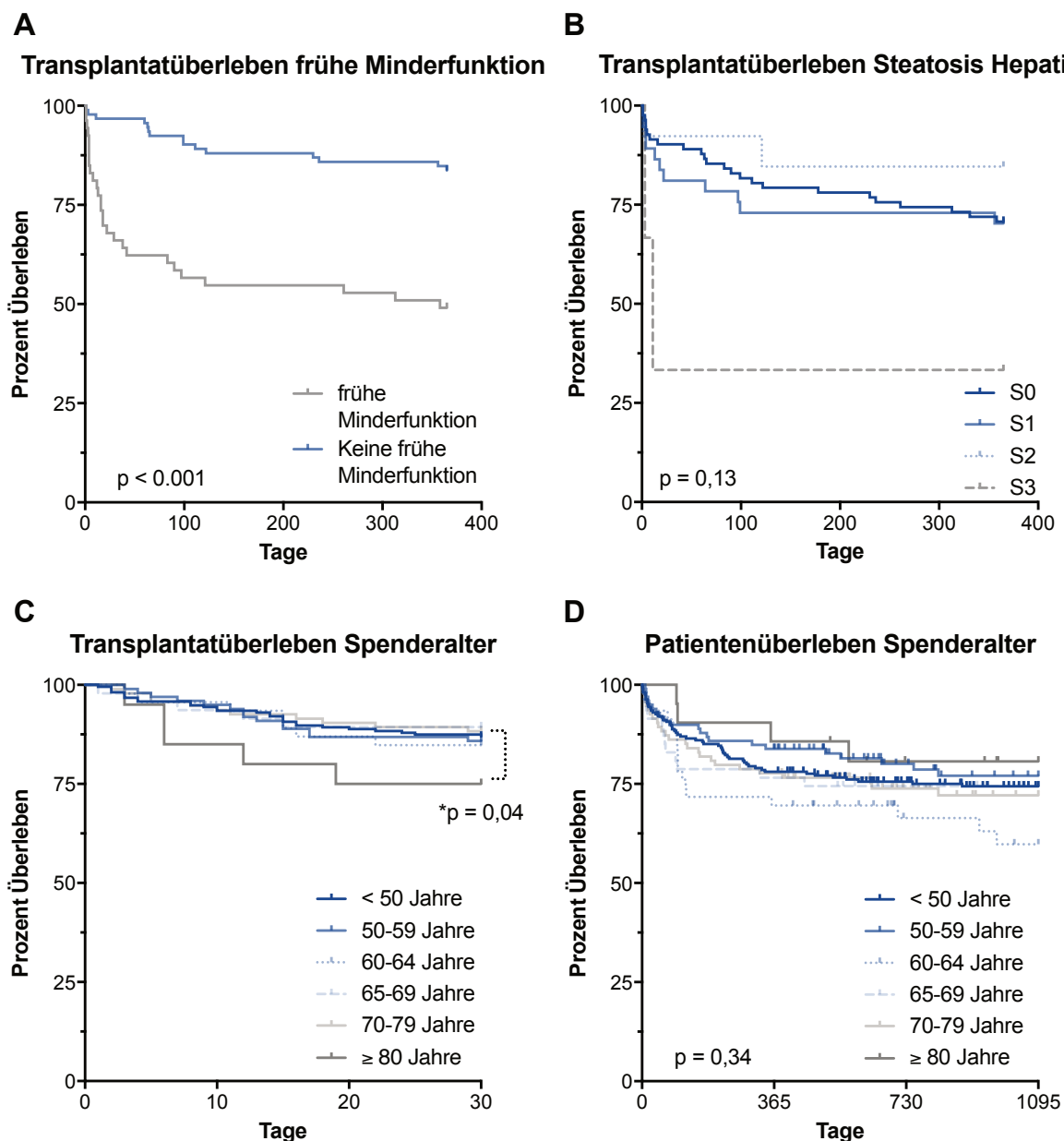


Abb. 2: (A) Kaplan-Meier-Analyse des Transplantatenüberleben mit und ohne *früher Minderfunktion* (B) Kaplan-Meier-Analyse des Transplantatüberlebens (S0=keine Steatosis hepatis; S1=leichte Steatosis hepatis, S2=moderate Steatosis hepatis; S3=schwerwiegende Steatosis hepatis (C) Kaplan-Meier-Analyse des Transplantatüberlebens aufgeschlüsselt nach Spenderalter (D) Kaplan-Meier-Analyse des Patientenüberlebens aufgeschlüsselt nach Spenderalter. [31, 32]

Tabelle 1. Spendercharakteristika

	Gesamt	Vermittelt	Trans- plantiert	Nicht vermittelt	p
n	2652	1561	526	565	
Geschlecht (m) (n, %)	1418 (53,5)	816 (52,3)	268 (51,0)	334 (59,3)	0,007
Alter ¹	51,3 ± 20,6	49,0 ± 20,8	53,25 ± 18,2	56,0 ± 21,3	< 0,001
Todesursache					< 0,001
Trauma (n, %)	464 (17,5)	309 (19,8)	84 (15,9)	71 (12,6)	
Vaskulär (n, %)	1308 (49,3)	716 (45,9)	288 (54,6)	304 (53,8)	
Hypoxisch (n, %)	379 (14,3)	219 (14,0)	74 (14,0)	86 (15,2)	
Sonstige (n, %)	501 (18,9)	317 (20,3)	80 (15,2)	104 (18,4)	
BMI (kg/m²) ¹	25,5 ± 4,9	25,0 ± 4,3	25,6 ± 4,6	26,8 ± 6,3	< 0,001
ITS Liegezeit (Tage) ²	3,0 (5)	3 (5)	3 (6)	3 (4)	0,25
AST (U/l) ²	52,0 (76)	49,0 (71)	47,0 (78)	64,5 (102)	< 0,001
ALT (U/l) ²	34,0 (60)	34,0 (57)	34,0 (59)	36 (70)	0,08
GGT (U/l) ²	44,0 (93)	39,0 (78)	47,0 (100)	70,0 (161)	< 0,001
Bilirubin (µmol/l) ²	8,7 (10)	8,2 (10)	9,2 (10)	12,0 (14)	< 0,001
INR ²	1,18 (0,24)	1,16 (0,25)	1,19 (0,27)	1,2 (0,29)	< 0,001
Kreatinin (µmol/l) ²	70,7 (57,3)	68,0 (55,75)	73,2 (51,85)	79,8 (68,58)	< 0,001
CRP (mg/l) ²	139,9 (162,65)	136,8 (164,75)	142,5 (152,4)	143,6 (175,23)	0,29
Na⁺ (mmol/l) ²	148,0 (76,0)	148,0 (11)	147,0 (10)	148,0 (12)	0,15
Reanimation (n, %)	177 (11)	128 (8,2)	14 (2,7)	35 (6,2)	< 0,001
Steatosis Hepatis (n, %)	665 (26,6)	334 (22,4)	114 (22,9)	217 (42,4)	< 0,001

¹ Mittelwert ± Standardabweichung; ² Median (Interquartilsabstand); Abkürzungen: ALT: Alanine-aminotransferase; AST: Aspartat-aminotransferase; BMI: Body Mass Index; CRP: C-reaktives Protein; GGT: Gamma-glutamyl Transferase; ITS: Intensivstation; INR: International Normalized Ratio; Na⁺: Serumnatrium. [31]

Tabelle 2. Empfängercharakteristika

	Spenderalter < 65 Jahre	Spenderalter ≥ 65 Jahre	p
n	364	162	
Geschlecht (m)²	230 (63,2)	108 (66,7)	0,44
BMI¹	25,9 (7,3)	26,5 (6,9)	0,005
labMELD¹	20 (18)	16 (14,25)	0,005
D-MELD¹	871 (799)	1226 (1047)	< 0,001
DRI¹	2,2 (9,7)	2,8 (0,4)	< 0,001
Alter¹	53 (19)	57 (11)	< 0,001
Kaltischämie (min) ¹	547 (196)	559 (149,75)	0,95
Intensivzeit (Tage) ¹	13 (29)	9 (13)	< 0,001
Krankenhausaufenthalt¹	36 (39)	31 (31)	0,05
Retransplantation²	33 (9,1)	11 (6,8)	0,38
Indikation²			< 0,001
Akutes Leberversagen	31 (8,5)	2 (1,2)	
Cholestatisch	21 (5,8)	15 (9,3)	
Kongenital	8 (2,2)	0	
Leberzirrhose	108 (29,7)	59 (36,4)	
HCC	80 (22,0)	62 (38,3)	
Benigner Tumor	10 (2,7)	3 (1,9)	
Metabolisch	25 (6,9)	9 (5,6)	
Retransplantation	67 (18,4)	10 (6,2)	
Sonstige	14 (3,8)	2 (1,2)	

¹ Median (Interquartilsabstand); ² Anzahl der Fälle (Prozent). [32]

Experimenteller Teil

Perfusionsparameter

Das Lebergewicht der 24 über sechs Stunden perfundierten Lebern betrug im Mittel $13,6 \pm 2,2\text{g}$ und unterschied sich zwischen den Versuchsgruppen nicht signifikant. Die Kaltischämiezeit zwischen Organspülung und Start der Perfusion betrug im Median 60min (Interquartilsabstand 10min). Der portalvenöse Druck war überwiegend innerhalb physiologischer Grenzen, wobei sich ein signifikant höherer Reperfusiondruck von Lebern nach Organentnahme nach Herztod (DCD G-|D-: 9,3 IQR 5,2mmHg) im Vergleich zum regulären Versuchsaufbau (G-|D-: 7,4 IQR 2,6mmHg) zeigte ($p=0,01$), der sich aber im Verlauf der Perfusion normalisierte (**Abb. 3A**). Die Galleproduktion betrug nach sechs Stunden Perfusion im Median 241,5mg (IQR 134,8mg), blieb jedoch auch nach Zugabe von Glycin oder Verwendung der Dialyse unverändert zwischen den Versuchsgruppen (**Abb. 3E**).

Laborchemische Ergebnisse

Durch das Hinzufügen der Dialyse konnte der Kaliumanstieg von bis zu 18mmol/l (IQR 6mmol/l) nach sechs Stunden in der DCD G+|D- Gruppe auf physiologische Werte reduziert werden (DCD G+|D+: 4,1mmol/l; IQR 3,1; $p=0,01$) (**Abb. 3B**). Ebenso waren die ALT Werte nach sechs Stunden Perfusion in zwei der Gruppen ohne Dialyse (G-|D-: 946U/l IQR 1121U/l) signifikant höher ($p=0,04$), die niedrigsten Werte wurden in der Gruppe mit Dialyse und Glycin beobachtet (G+|D+: 221U/l IQR 129,5U/l) (**Abb. 3C**). Der pH-Wert war zu Beginn der Perfusion im physiologischen Bereich, wobei die DCD Gruppen eher alkalisch waren. Im Verlauf der Perfusion fielen in allen Versuchsgruppen die pH-Werte in unphysiologisch niedrige Bereiche (DCD G-|D-: 6,9 IQR 0,1) (**Abb. 3D**). Unter Berücksichtigung des Gesamtvolumens der Perfusionskreisläufe mit Dialyse (50ml im Kreislauf; 500ml im Dialysat) und des im Dialysat gemessenen Harnstoff, war die Menge an produziertem Harnstoff in den Gruppen mit Dialyse signifikant erhöht ($p=0.001$) (**Abb. 3F**).

Histologische Auswertung

Die Auswertung der Hämatoxylin-Eosin-Färbungen ergab in allen Versuchsgruppen nur einen geringen Grad an sinusoidaler Dilatation (**Abb. 4A-D**). In den Gruppen ohne Dialyse und Glycin fand sich ein höheren Anteil an demarkierten apoptotischen und nekrotischen Zellen (**Abb. 4A**). Diese Aussage wurde von der immunhistochemischen Einzelstrang-DNA-Färbung unterstützt, in der sich die nekrotischen und apoptotischen Anteile braun darstellten (**Abb. 4E-L**). Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch bei der Auswertung der perfundierten Lebern nach Organentnahme nach Herztod. Auch hier profitierte die Leber, gemessen an der Nekrose und Apoptose in der Hämatoxylin-Eosin und Einzelstrang-DNA-Färbung, von der Perfusion mit Dialyse und Glycin [17].

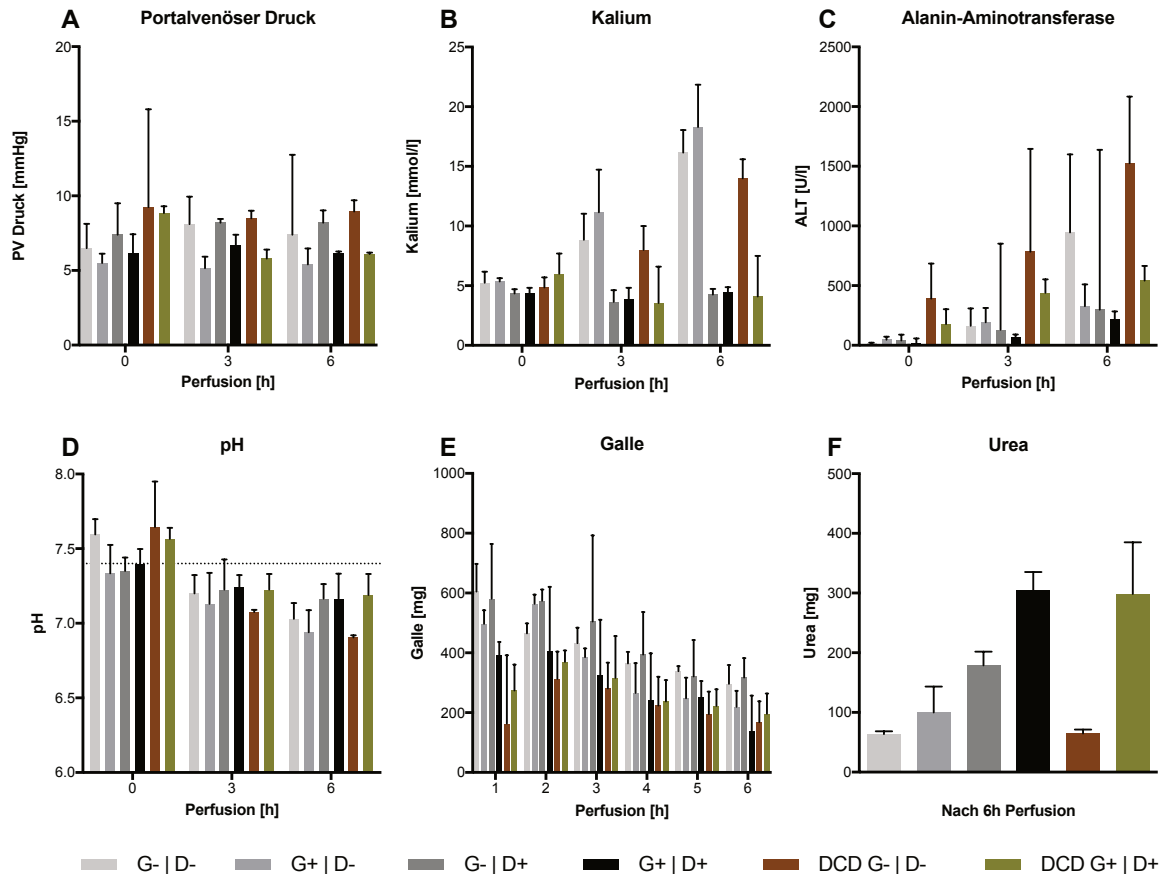


Abb. 3: (A) Portalvenöser Druck (G für Glycin und D für Dialyse; DCD für *Organentnahme nach Herztod*) (B) Kaliumkonzentration signifikant erniedrigt bei Perfusion mit Dialyse und Glycin (C) Alanin-Aminotransferase Werte nach sechs Stunden Perfusion erhöht in den Versuchsgruppen ohne Dialyse und Glycin (D) pH Werte während der Perfusion (E) Galleproduktion in Milligramm pro Stunde (F) Ureaproduktion normiert auf das Gesamtvolumen nach sechs Stunden Perfusion. [17]

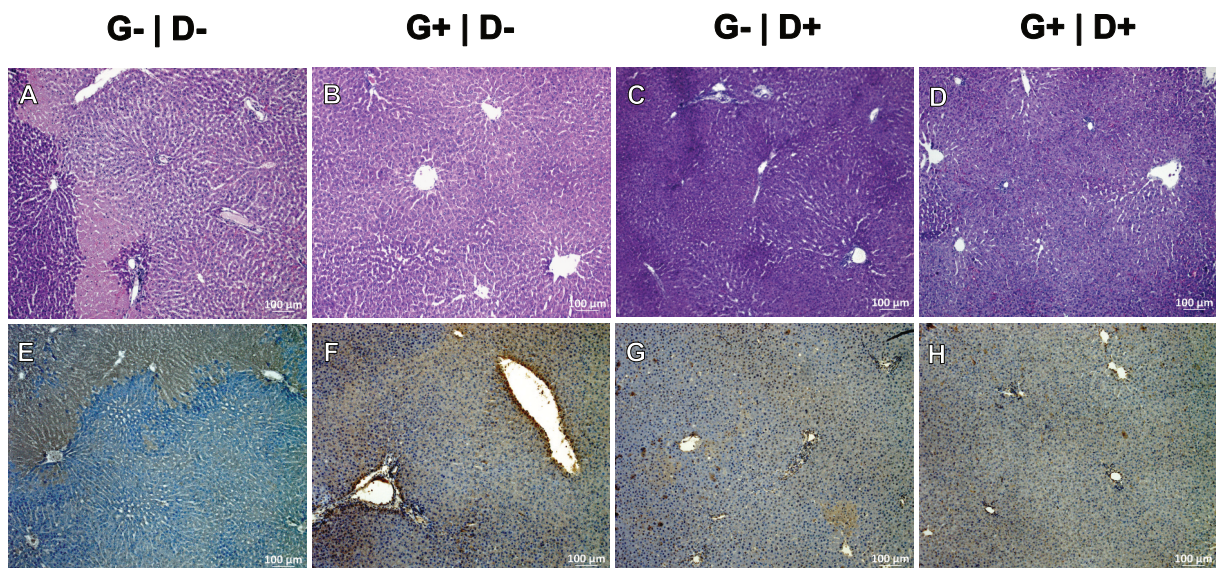


Abb. 4: (A-D) Repräsentative Hämatoxylin-Eosin-Färbung Versuchsgruppe (G für Glycin und D für Dialyse) (E-H) Repräsentative immunohistochemische Einzelstrang-DNA-Färbung jeder Versuchsgruppe. *Organentnahme nach Herztod* (DCD) Versuchsgruppen nicht dargestellt. [17]

DISKUSSION

Der Mangel an geeigneten Spenderorganen in Deutschland erfordert eine Reevaluation bisher gültiger Kriterien zur Organakzeptanz. Nicht nur die Zahl älterer Menschen an der deutschen Population, die von 22% (17,9 Millionen) im Jahr 2018 auf voraussichtlich 28% (21,8 Millionen) bis 2030 steigen wird, sondern auch die Prävalenz der Steatosis hepatis, die zwischen 20% und 30% in Europa liegt, unterstreicht die aktuelle Problematik [3, 37]. Bekanntermaßen führen solche Transplantate zu einer höheren Rate an Komplikationen, wie *primärer Nichtfunktion* und *früher Minderfunktion*. Mögliche Lösungsansätze wie die *ex vivo* Maschinenperfusion zur Optimierung der Kaltischämiezeit während des Transports befinden sich noch in der klinischen Evaluierung, wobei experimentelle Untersuchungen überwiegend im Großtiermodell stattfinden [2, 26, 27].

Durch die Auswertung des Lebertransplantationsprogramms der Charité im Zeitraum von 2010 – 2016 konnte gezeigt werden, dass zwar Alter und Steatosis hepatis häufige Ablehnungsgründe eines Organangebots waren, aber dass weder ein Spenderalter ≥ 65 Jahre noch eine markovesikuläre Steatosis hepatis $< 60\%$ zu einem verschlechterten Transplantat- oder Patientenüberleben führte. Einschränkungen bestanden vor allem bei verlängerter Kaltischämiezeit von mehr als acht Stunden und dem Vorliegen einer Steatosis hepatis oder bei der Transplantation von ≥ 80 -jährigen Spenderorganen, die beide zu häufiger *primärer Nichtfunktion* bzw. *früher Minderfunktion* mit resultierender Retransplantation führten. Im experimentellen Teil dieser Arbeit wurde ein normothermen *ex vivo* Maschinenperfusionssystem für Untersuchungen mit Ratten-Lebertransplantaten entwickelt, welches zur Untersuchung von Konservierungs- und Konditionierungskonzepten genutzt werden kann. Es konnte gezeigt werden, dass die Hinzunahme einer Dialyse und Applikation von Glycin während der Perfusion die Leberzellschädigungsparameter verbessert und die Akkumulation von Metaboliten reduziert werden konnte. Bisher konnten nur teilweise Überlebensunterschiede nach Transplantation älterer oder steatotischer Organe nachgewiesen werden. So ist bereits in kleinen Fallserien aus Italien von bis zu 90-jährigen Spendern berichtet worden, deren Organe erfolgreich transplantiert werden konnten [19]. Bei der Leberlebendspende zeigen Ergebnisse aus Japan und Südkorea aber bereits ab einem Alter > 60 Jahre ein signifikant schlechteres Überleben, in der Subanalyse aktuellerer Daten unterscheidet sich das Überleben jedoch nicht mehr [24, 29]. Deutlich wird, dass die Transplantationsgemeinschaft sich den Gegebenheiten anscheinend angepasst hat und die gesammelte Erfahrung bei der adäquaten Auswahl von Spender*innen und Empfänger*innen anwendet. Dudek et al. zeigte vor allem bei Empfänger*innen mit hohem MELD, einen Überlebensnachteil nach Transplantation älterer Spenderorgane [12]. Erfahrungen, die z.B. zur Erfassung des D-MELD bei der Organallokation führen und anhand derer bessere Risikostratifizierung gelingen kann, wie es anhand der Daten aus der Charité – Universitätsmedizin vorgeschlagen wird [32]. So ließe sich die höhere Rate an Retransplantation verhindern, die zwar hier erst bei Spender*innen ≥ 80 Jahren auftrat, in vergleichbaren Studien aber bereits bei Spender*innen ≥ 70 Jahre berichtet wurde [20]. Essentiell ist auch die Begutachtung der Organe vor Transplantation. Biochemisch gab es vor Transplantation keine signifikanten Unterschiede, die ein Hinweis für

eine *primäre Nichtfunktion* hätten sein können. Die makroskopische Begutachtung vor Transplantation und die in Grenzfällen durchgeführte histologische Begutachtung eines Transplantats im Schnellschnitt hilft und kann zumindest eine Steatosis hepatis erkennen. Vor allem Organe von älteren Spender*innen waren zudem häufiger steatotisch, wiesen höhere Leberzellschädigungsparameter auf und gingen einher mit einer schlechteren verbliebene Nierenfunktion der Spender*innen [31]. Die Kombination dieser Faktoren macht eine Akzeptanz und Transplantation besonders problematisch, da jeder Faktor für sich ein eigenes Risiko darstellt [5, 22]. Die höheren Raten an *früher Minderfunktion* decken sich mit bisherigen Publikationen, wobei sich im Gegensatz dazu eine *frühe Minderfunktion* hier bereits bei leichter und moderater Steatosis zeigte [9, 42]. Eine verlängerte Kaltischämiezeit zeigte sich auch als potenzierender Faktor. Die hohe Ablehnungsrate, vor allem wegen des Spenderalters und einer Steatosis hepatis der Spender*innen, scheint bei diesem Risiko gerechtfertigt. Trotzdem bedarf es dringend Alternativen, da in Zukunft immer mehr Spender*innen in eine oder beide dieser Kategorien fallen werden. Die Etablierung eines stabilen, reproduzierbaren Kleintiermodells zur *ex vivo* Perfusion der Rattenleber, zur Erprobung möglicher Konservierungsoptionen ist ein Anfang dafür. Es konnte gezeigt werden, dass die Zunahme einer Dialyse zu signifikant erniedrigten und physiologischen Kaliumwerten nach sechs Stunden Perfusion führte, signifikant mehr Harnstoff durch die Lebern produziert wurde und zumindest im *Organentnahme nach Herztod*-Modell, die Leberzellschädigung, gemessen an der ALT, signifikant durch die Kombination aus Glycin und Dialyse gesenkt wurde. In der histologischen Begutachtung in der Hämatoxylin-Eosin und Einzelstrang DNA Färbung, zeigten sich ebenso positive Effekte, sowohl durch Dialyse als auch Glycin, wobei die besten Ergebnisse insgesamt durch die Kombination erzielt wurde.

Schlegel et al. haben in einem Organentnahmemodelle nach Herzstillstand, nach einer Stunde Warmischämie die hypotherme und normotherme Perfusion von Rattenlebern über vier Stunden verglichen und erfolgreich transplantieren können [40]. Op den Dries et al. analysierten nach drei Stunden Kaltischämie oder normothermer Perfusion in beiden Gruppen die Reperfusion über zwei Stunden *ex vivo* [34]. Primär gilt es, die Auswirkung des Ischämie-Reperfusionsschadens zu minimieren; das optimale Modell dafür, gilt es noch zu bestimmen. Die Evaluation der Tauglichkeit der hier beschriebenen *ex vivo* Maschinenperfusion der Rattenleber durch eine erfolgreiche Transplantation nach Perfusion steht noch aus. Die Ergebnisse der klinischen Auswertung sind durch den relativen kurzen Analysezeitraum von 2010 bis 2016 limitiert und auf die Transplantationsergebnisse eines Zentrums begrenzt. Daten über das Überleben nach Transplantation und die Akzeptanzpolitik im ganzen *Eurotransplant*-Raum wären wünschenswert und würden eine weitreichendere Aussage erlauben. Nichtsdestotrotz reflektieren die präsentierten Daten zur Allokation und Transplantation mit Einschränkungen die Lebertransplantation in Deutschland als Teil *Eurotransplants*. Das Kleintier *ex vivo* Maschinenperfusionmodell könnte um eine duale Perfusion inklusive A. hepatica erweitert werden und bietet noch Raum für weitere Explorationen zur Optimierung der Organqualität. Zukünftig könnte die *ex vivo* Maschinenperfusion in der Klinik therapeutisch an der Evaluation und Optimierung der Organqualität vor Transplantation verwendet werden und so einen wichtigen Beitrag zu der aktuellen Organtransplantationskrise leisten.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Angele MK, Rentsch M, Hartl WH, Wittmann B, Graeb C, Jauch KW, Loehe F (2008) Effect of graft steatosis on liver function and organ survival after liver transplantation. *The American Journal of Surgery* 195:214-220
2. Banan B, Watson R, Xu M, Lin Y, Chapman W (2016) Development of a normothermic extracorporeal liver perfusion system toward improving viability and function of human extended criteria donor livers. *Liver Transpl* 22:979-993
3. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla D-C, Roudot-Thoraval F (2013) The burden of liver disease in Europe: A review of available epidemiological data. *Journal of Hepatology* 58:593-608
4. Briceño J, Padillo J, Rufián S, Solórzano G, Pera C (2005) Assignment of steatotic livers by the Mayo model for end-stage liver disease. *Transplant International* 18:577-583
5. Cameron AM, Ghobrial RM, Yersiz H, Farmer DG, Lipshutz GS, Gordon SA, Zimmerman M, Hong J, Collins TE, Gornbein J, Amersi F, Weaver M, Cao C, Chen T, Hiatt JR, Busuttil RW (2006) Optimal utilization of donor grafts with extended criteria: a single-center experience in over 1000 liver transplants. *Ann Surg* 243:748-753; discussion 753-745
6. Chu MJJ, Dare AJ, Phillips ARJ, Bartlett ASJR (2015) Donor Hepatic Steatosis and Outcome After Liver Transplantation: a Systematic Review. *J Gastrointest Surg* 19:1713-1724
7. Collaborators TGO (2017) Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine*
8. De Boer JD, Koopman JJ, Metselaar HJ, Braat AE, Blok JJ (2017) Liver transplantation with geriatric liver allografts: the current situation in Eurotransplant. *Transpl Int* 30:432-433
9. Deroose JP, Kazemier G, Zondervan P, Ijzermans JNM, Metselaar HJ, Alwayn IPJ (2011) Hepatic steatosis is not always a contraindication for cadaveric liver transplantation. *HPB (Oxford)* 13:417-425
10. Deutsche Stiftung Organtransplantation (2017) Organspende und Transplantation in Deutschland 2017. Deutsche Stiftung, Organtransplantation, Frankfurt am Main
11. Die Bundesregierung Der Bundesrepublik Deutschland (2018) Zweites Gesetz zur Änderung des Transplantationsgesetzes – Verbesserung der Zusammenarbeit und der Strukturen bei der Organspende. In: Deutschland DBdB (ed), Berlin
12. Dudek K, Kornasiewicz O, Remiszewski P, Zieniewicz K, Wroblewski T, Krawczyk M (2014) Results of liver transplantation from old donors. *Transplant Proc* 46:2762-2765
13. Dutkowski P, Schlegel A, Slankamenac K, Oberkofler CE, Adam R, Burroughs AK, Schadde E, Mullhaupt B, Clavien PA (2012) The use of fatty liver grafts in modern allocation systems: risk assessment by the balance of risk (BAR) score. *Ann Surg* 256:861-868; discussion 868-869
14. Feng S, Goodrich NP, Bragg-Gresham JL, Dykstra DM, Punch JD, Debroy MA, Greenstein SM, Merion RM (2006) Characteristics Associated with Liver Graft Failure: The Concept of a Donor Risk Index. *American Journal of Transplantation* 6:783-790
15. Freeman RB, Jr., Wiesner RH, Harper A, McDiarmid SV, Lake J, Edwards E, Merion R, Wolfe R, Turcotte J, Teperman L, Unos/Optn Liver Disease Severity Score UOL,

- Intestine, Committees UOPT (2002) The new liver allocation system: moving toward evidence-based transplantation policy. *Liver Transpl* 8:851-858
16. Gao Q, Mulvihill MS, Scheuermann U, Davis RP, Yerxa J, Yerokun BA, Hartwig MG, Sudan DL, Knechtle SJ, Barbas AS (2018) Improvement in Liver Transplant Outcomes From Older Donors: A US National Analysis. *Ann Surg*
 17. Gassner J, Nossler M, Moosburner S, Horner R, Tang P, Wegener L, Wyrwal D, Claussen F, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N (2019) Improvement of Normothermic Ex Vivo Machine Perfusion of Rat Liver Grafts by Dialysis and Kupffer Cell Inhibition With Glycine. *Liver Transpl* 25:275-287
 18. Gehrau RC, Mas VR, Dumur CI, Suh JL, Sharma AK, Cathro HP, Maluf DG (2015) Donor Hepatic Steatosis Induce Exacerbated Ischemia-Reperfusion Injury Through Activation of Innate Immune Response Molecular Pathways. *Transplantation* 99:2523-2533
 19. Ghinolfi D, De Simone P, Tincani G, Pezzati D, Filipponi F (2016) Beyond the Limit: Approaching Systematic Use of Nonagenarian Donors in Liver Transplantation. *Transplantation* 100:e37-38
 20. Ghinolfi D, Lai Q, Pezzati D, De Simone P, Rreka E, Filipponi F (2018) Use of Elderly Donors in Liver Transplantation: A Paired-match Analysis at a Single Center. *Ann Surg* 268:325-331
 21. Ghinolfi D, Marti J, De Simone P, Lai Q, Pezzati D, Coletti L, Tartaglia D, Catalano G, Tincani G, Carrai P, Campani D, Miccoli M, Biancofiore G, Filipponi F (2014) Use of octogenarian donors for liver transplantation: a survival analysis. *Am J Transplant* 14:2062-2071
 22. Halazun KJ, Rana AA, Fortune B, Quillin RC, 3rd, Verna EC, Samstein B, Guarrera JV, Kato T, Griesemer AD, Fox A, Brown RS, Jr., Emond JC (2018) No country for old livers? Examining and optimizing the utilization of elderly liver grafts. *Am J Transplant* 18:669-678
 23. Halldorson JB, Bakthavatsalam R, Fix O, Reyes JD, Perkins JD (2009) D-MELD, a simple predictor of post liver transplant mortality for optimization of donor/recipient matching. *Am J Transplant* 9:318-326
 24. Kamo N, Kaido T, Hammad A, Ogawa K, Fujimoto Y, Uemura T, Mori A, Hatano E, Okajima H, Uemoto S (2015) Impact of elderly donors for liver transplantation: A single-center experience. *Liver Transpl* 21:591-598
 25. Kan C, Ungelenk L, Lupp A, Dirsch O, Dahmen U (2018) Ischemia-Reperfusion Injury in Aged Livers-The Energy Metabolism, Inflammatory Response, and Autophagy. *Transplantation* 102:368-377
 26. Knaak JM, Spetzler VN, Goldaracena N, Louis KS, Selzner N, Selzner M (2014) Technique of subnormothermic ex vivo liver perfusion for the storage, assessment, and repair of marginal liver grafts. *J Vis Exp*:e51419
 27. Kollmann D, Selzner M (2017) Recent advances in the field of warm ex-vivo liver perfusion. *Curr Opin Organ Transplant* 22:555-562
 28. Kron P, Schlegel A, Mancina L, Clavien PA, Dutkowski P (2017) Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) for fatty liver grafts in rats and humans. *J Hepatol*
 29. Kubota T, Hata K, Sozu T, Ueda Y, Hirao H, Okamura Y, Tamaki I, Yoshikawa J, Kusakabe J, Tanaka H, Kageyama S, Anazawa T, Yoshizawa A, Yagi S, Yamashiki N, Okajima H, Kaido T, Uemoto S (2018) Impact of Donor Age on Recipient Survival in Adult-to-Adult Living-donor Liver Transplantation. *Ann Surg* 267:1126-1133

30. Kulik U, Lehner F, Klempnauer J, Borlak J (2017) Primary non-function is frequently associated with fatty liver allografts and high mortality after re-transplantation. *Liver Int*
31. Moosburner S, Gassner J, Nosser M, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F, Ritschl PV, Dragun D, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N (2018) Prevalence of Steatosis Hepatis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates. *HPB Surg* 2018:6094936
32. Moosburner S, Ritschl PV, Wiering L, Gassner J, Ollinger R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N (2019) [High donor age for liver transplantation : Tackling organ scarcity in Germany]. *Chirurg*
33. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, Shaked A, Christie JD (2010) Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl* 16:943-949
34. Op Den Dries S, Karimian N, Westerkamp AC, Sutton ME, Kuipers M, Wiersema-Buist J, Ottens PJ, Kuipers J, Giepmans BN, Leuvenink HG, Lisman T, Porte RJ (2016) Normothermic machine perfusion reduces bile duct injury and improves biliary epithelial function in rat donor livers. *Liver Transpl* 22:994-1005
35. Pais R, Barritt 4th AS, Calmus Y, Scatton O, Runge T, Lebray P, Poynard T, Ratziu V, Conti F (2016) NAFLD and liver transplantation: Current burden and expected challenges. *Journal of Hepatology* 65:1245-1257
36. Pezzati D, Ghinolfi D, De Simone P, Balzano E, Filipponi F (2015) Strategies to optimize the use of marginal donors in liver transplantation. *World J Hepatol* 7:2636-2647
37. Pöttsch OR (2015) 13. koordinierte Bevölkerungsvorausberechnung für Deutschland. Statistisches Bundesamt, Wiesbaden
38. Pratschke S, Bender A, Boesch F, Andrassy J, Van Rosmalen M, Samuel U, Rogiers X, Meiser B, Kuchenhoff H, Driesslein D, Werner J, Guba M, Angele MK, Eurotransplant L, Intestine Advisory C (2018) Association between donor age and risk of graft failure after liver transplantation: an analysis of the Eurotransplant database. *Transpl Int*
39. Rohn S, Schroeder J, Riedel H, Polenz D, Stanko K, Reutzel-Selke A, Tang P, Brusendorf L, Raschzok N, Neuhaus P, Pratschke J, Sawitzki B, Sauer IM, Mogl MT (2016) Allogeneic Liver Transplantation and Subsequent Syngeneic Hepatocyte Transplantation in a Rat Model: Proof of Concept for in vivo Tissue Engineering. *Cells Tissues Organs*
40. Schlegel A, Kron P, Graf R, Dutkowski P, Clavien PA (2014) Warm vs. cold perfusion techniques to rescue rodent liver grafts. *J Hepatol* 61:1267-1275
41. Schulte K, Borzikowsky C, Rahmel A, Kolibay F, Polze N, Fränkel P, Mikle S, Alders B, Kunzendorf U, Feldkamp T (2018) Decline in organ donation in Germany. *Deutsches Aerzteblatt Online*
42. Sharkey FE, Lytvak I, Prihoda TJ, Speeg KV, Washburn WK, Half GA (2011) High-grade microsteatosis and delay in hepatic function after orthotopic liver transplantation. *Human Pathology* 42:1337-1342
43. Tacke F, Kroy DC, Barreiros AP, Neumann UP (2016) Liver transplantation in Germany. *Liver Transpl* 22:1136-1142
44. Williams T (2015) Metabolic Syndrome: Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *FP Essent* 435:24-29

Eidesstattliche Versicherung und Anteilserklärung

Ich, Simon Moosburner, versichere an Eides stattdurch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **Erweiterung der Spenderpopulation bei Lebertransplantation: Klinischer Bedarf und Entwicklung eines Kleintier-Lebermaschinenperfusionssystems** selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

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

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Simon Moosburner hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Moosburner S*, Ritschl PV*, Wiering L, Gassner J, Ollinger R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **[High donor age for liver transplantation: Tackling organ scarcity in Germany]**. Chirurg. 2019. Epub 2019/02/02.

** Zu gleichen Teilen zum Manuskript beigetragen.*

Beitrag im Einzelnen: Mitgestaltung in der Planung der Studie. Kontakt mit *Eurotransplant* zur Beschaffung des Rohdatensatzes. Statistische Auswertung resultierend in Abbildung 1 bis 3 und Tabelle 1 bis 4. Schreiben und Einreichen des Papers, Antwort auf die Fragen der Reviewer, Revision und Wiedereinreichen, Korrespondenz mit den Editoren bis zur Veröffentlichung.

Publikation 2: Moosburner S, Gassner JMGV, Nösser M, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F, Ritschl PV, Dragun D, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Prevalence of Steato-sis Hepatis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates**. HPB Surgery. 2018;2018:1-9.

Beitrag im Einzelnen: Planung der Studie. Auswerten alle Lebertransplantationsakten seit 2010. Statistische Auswertung resultierend in Abbildung 1 bis 4 und Tabelle 1 bis 3. Schreiben und Einreichen des Papers, Antwort auf die Fragen der Reviewer, Revision und Wiedereinreichen, Korrespondenz mit den Editoren bis zur Veröffentlichung.

Publikation 3: Gassner J, Nösser M, Moosburner S, Horner R, Tang P, Wegener L, Wyrwal D, Claussen F, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Improvement of Normothermic Ex Vivo Machine Perfusion of Rat Liver Grafts by Dialysis and Kupffer Cell Inhibition With Glycine**. Liver Transpl. 2019;25(2):275-87.

Beitrag im Einzelnen: Beteiligung an der Entwicklung und Verkleinerung des Reaktoraufbaus. Die graphische Gestaltung der Abbildung 1, inklusive Erstellen des schematischen Perfusionskreislaufs, erfolgte durch mich. Aus meiner statistischen Auswertung sind Abbildung 2, 3 und 5 entstanden. Die Aufbereitung des histologischen Probenmaterials, Schneiden und Färben in H.E. und Einzelstrang-DNA-finden sich in Abbildung 4 und 5. Die in Abbildung 2C, D & E erhobenen Blutgaswerte sind zum Teil der Versuche von mir erhoben worden. Bei der Erstellung des Manuskripts war ich mitbeteiligt, die nachträglichen Versuche, die in der Revision für die Wiedereinreichung gewünscht waren, wurden von mir mitgetragen.

Unterschrift des Doktoranden

AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

Moosburner S, Gassner J, Nosser M, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F, Ritschl PV, Dragun D, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Prevalence of Steatosis Hepatis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates.** HPB Surg. 2018;2018:6094936.

PubMed PMID: 30515073

(Nicht in der Journal Summary List des ISI Web of KnowledgeSM)

(SCImago Journal Rank 0,82 im Jahr 2017)

Gassner J, Nosser M, Moosburner S, Horner R, Tang P, Wegener L, Wyrwal D, Claussen F, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Improvement of Normothermic Ex Vivo Machine Perfusion of Rat Liver Grafts by Dialysis and Kupffer Cell Inhibition With Glycine.**

Liver Transpl. 2019;25(2):275-87.

PubMed PMID: 30341973

(Impact Factor: 3,752 im Jahr 2017)

Moosburner S*, Ritschl PV*, Wiering L, Gassner J, Ollinger R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **[High donor age for liver transplantation: Tackling organ scarcity in Germany].**

Chirurg. 2019. Epub 2019/02/02.

PubMed PMID: 30707248

** Zu gleichen Teilen zum Manuskript beigetragen.*

(Impact Factor: 0,669 im Jahr 2017)

Moosburner S, Gassner J, Nosser M, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F, Ritschl PV, Dragun D, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Prevalence of Steatosis Hepatis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates.** HPB Surg. 2018;2018:6094936 .
PubMed PMID: 30515073
<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

Gassner J, Nossler M, Moosburner S, Horner R, Tang P, Wegener L, Wyrwal D, Claussen F, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Improvement of Normothermic *Ex Vivo* Machine Perfusion of Rat Liver Grafts by Dialysis and Kupffer Cell Inhibition With Glycine.**

Liver Transpl. 2019;25(2):275-87.

PubMed PMID: 30341973

<https://doi.org/10.1002/lt.25360>

Moosburner S*, Ritschl PV*, Wiering L, Gassner J, Ollinger R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **[High donor age for liver transplantation: Tackling organ scarcity in Germany]**.

Chirurg. 2019. Epub 2019/02/02.

PubMed PMID: 30707248

<https://doi.org/10.1007/s00104-019-0801-z>

LEBENS LAUF

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

KOMPLETTE PUBLIKATIONSLISTE

Kuzmicheva O, Focke Martinez S, Krebs U, Spranger M, Moosburner S, Wagner B, Graser A. **Overground robot based gait rehabilitation system MOPASS - overview and first results from usability testing.** 2016 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA) 2016. p. 3756-63.

(Nicht in der Journal Summary List des ISI Web of KnowledgeSM)

Kiselev J, Wegel S, Moosburner S, Dimitrovska S, Steinhagen-Thiessen E. **Bewertung des Sturzrisikos bei älteren Menschen: Divergenzen zwischen der subjektiven sturzassozierten Selbstwirksamkeit und objektiven Sturzrisiken.** physioscience. 2017;13(01):25-30. doi: 10.1055/s-0035-1567154.

(Nicht in der Journal Summary List des ISI Web of KnowledgeSM)

Sauer IM, Queisner M, Tang P, Moosburner S, Hoepfner O, Horner R, Lohmann R, Pratschke J. **Mixed Reality in Visceral Surgery: Development of a Suitable Workflow and Evaluation of Intraoperative Use-cases.** Ann Surg. 2017;266(5):706-12. Epub 2017/08/03. doi: 10.1097/SLA.0000000000002448. PubMed PMID: 28767561.

(Impact Factor: 9,203 im Jahr 2017)

Moosburner S, Gassner J, Nossier M, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F, Ritschl PV, Dragun D, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Prevalence of Steatosis Hepatis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates.** HPB Surg. 2018;2018:6094936. Epub 2018/12/06. doi: 10.1155/2018/6094936.

(Nicht in der Journal Summary List des ISI Web of KnowledgeSM)

(SCImago Journal Rank 0,82 im Jahr 2017)

Moosburner S, Remde C, Tang P, Queisner M, Haep N, Pratschke J, Sauer IM. **Real world usability analysis of two augmented reality headsets in visceral surgery.** Artif Organs. 2018. Epub 2018/11/30. doi: 10.1111/aor.13396.

(Impact Factor: 2,11 im Jahr 2017)

Gassner J, Nossier M, Moosburner S, Horner R, Tang P, Wegener L, Wyrwal D, Claussen F, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Improvement of Normothermic Ex Vivo Machine Perfusion of Rat Liver Grafts by Dialysis and Kupffer Cell Inhibition With Glycine.** Liver Transpl. 2019;25(2):275-87. Epub 2018/10/21. doi: 10.1002/lt.25360.

(Impact Factor: 3,752 im Jahr 2017)

Moosburner S*, Ritschl PV*, Wiering L, Gassner J, Ollinger R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **[High donor age for liver transplantation: Tackling organ scarcity in Germany].** Chirurg. 2019. Epub 2019/02/02. doi: 10.1007/s00104-019-0801-z.

** Zu gleichen Teilen zum Manuskript beigetragen.*

(Impact Factor: 0,669 im Jahr 2017)

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt meinen Mentoren Priv.-Doz. Dr. Nathanael Raschzok und Prof. Dr. Igor M. Sauer der Chirurgischen Klinik, Campus Charité Mitte | Campus Virchow Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin für Ihre fortwährende Unterstützung in der Gestaltung dieser Arbeit und wissenschaftliche Förderung. Ich danke der Arbeitsgruppe der experimentellen Chirurgie und allen Kooperationspartner*innen und Co-Autor*innen für die Unterstützung und Zusammenarbeit. Mein herzlicher Dank geht außerdem an meine Freund*innen und meine Familie, die mich bis hierhin begleitet haben.