

1 Einleitung

1.1 Einführung

Die Leber ist die größte Drüse und das wichtigste Stoffwechselorgan des menschlichen Körpers¹. Die Vielseitigkeit ihrer Funktionen hat ihr den Ruf als „Zentrallaboratorium“ des Körpers eingebracht. Ihre funktionelle Lage zwischen dem Verdauungstrakt, also dem Ort der Resorption, und den peripheren Organen ist bezeichnend für ihre Aufgaben und für ihre Bedeutung im Körper. Sie ist der zentrale Ort für die Synthese, die Biotransformation und die Regulation lebenswichtiger oder auch lebensgefährlicher Stoffe und Kreisläufe, sowie ein Teil der unspezifischen Immunabwehr und ein Speicherort für Glykogen und Blut¹. Der ständige Kontakt mit exogenen und endogenen Abfallprodukten und Toxinen exponiert die Leber in besonderem Maße gegenüber akuten und chronischen Schädigungen. Um diesen Schäden entgegenwirken zu können, besitzt die Leber ein enormes Regenerationspotential. Sie hat die Fähigkeit zur vollständigen strukturellen und funktionellen Wiederherstellung. Jüngeren Erkenntnissen zufolge ist diese Fähigkeit auf ortständige Progenitorzellen, sog. Ovalzellen, zurückzuführen²⁻⁵.

Kommt es zu einem Ausfall der Leberfunktionen, können diese vom übrigen Körper nicht oder nur unvollständig kompensiert werden. Beim fulminant verlaufenden akuten Leberversagen (fulminant hepatic failure = FHF) kommt es innerhalb kürzester Zeit zu einer rapiden Verschlechterung des Allgemeinzustands der Patienten. Die hierbei einsetzende Entwicklung eines Hirnödems einhergehend mit einem cerebralen Hypertonus (hepatische Enzephalopathie) kann zu irreversiblen Hirnschäden führen⁶ und korreliert stark mit dem Ausgang der Erkrankung⁷. Bei konservativer Therapie liegt die Letalität je nach Genese zwischen 50 und 100%⁸⁻¹⁰. Die derzeitige einzige definitive Therapie ist die orthotope Transplantation einer allogenen Spenderleber (OLTx)¹¹. Aufgrund des Mangels an Spenderorganen steht diese Therapieoption jedoch nicht jedem Patienten zur Verfügung: die Mortalität von Patienten mit FHF auf der Warteliste für ein Spenderorgan wird mit 16%¹² bis 34%¹³ angegeben.

Für den Patienten bedeutet die OLTx neben den Risiken einer akuten oder verzögerten Abstoßung des Organs eine erhebliche Einschränkung der Lebensqualität aufgrund der

notwendigen lebenslangen Immunsuppression und eine deutlich reduzierte Lebenserwartung¹⁴. Darüber hinaus bedeutet die OLTx ein definitives Ende der möglichen regenerativen Prozesse der erkrankten Leber^{15, 16}.

Vor diesem Hintergrund besteht der dringende Bedarf an einer Therapieoption, welche die natürlichen Leberfunktionen vorübergehend ersetzen kann. Zu diesem Zweck wurden in den letzten Jahren verschiedene Systeme zur Kultivierung von Hepatozyten entwickelt, unter anderem in Form von Flachbett-Dialysatoren¹⁷, Kapillarrohrfaser-Dialysatoren¹⁸⁻²⁵, Spiralen aus Polystyrol^{9, 26-28}, Polyvinylchlorid (PVC) Kapseln²⁹ oder Dialysatoren mit Zellen, die in eine Kollagen-Matrix eingegossen wurden^{30, 31}.

Das in dieser Studie untersuchte Bioreaktor-System beruht auf dem Prinzip der Hohlfasermembran-Technologie. Zwei unabhängige hydrophile und ein hydrophobes Kapillarbündel sind so miteinander verwoben, dass Raum für die dreidimensionale Reorganisation einer Mischkultur aus parenchymatösen und nichtparenchymatösen Leberzellen geschaffen wird. Das hydrophobe Kapillarbündel dient hierbei zum Austausch von Sauerstoff und Kohlendioxid. Die beiden hydrophilen Kapillarbündel können gemeinsam oder getrennt voneinander, in Diffusions-, Perfusions- oder in Cross Flow Modus, mit Medium bzw. Plasma durchströmt werden. Es entsteht ein 4-Kompartimentraum, in welchem das Zellkompartiment von einem Begasungskompartiment und zwei unabhängigen Mediumperfusionskompartiments in einem regelmäßigen Muster durchwoben sind. Ziel ist die Schaffung einer möglichst physiologischen Nachahmung der Verhältnisse in einem parenchymatösen Organ, wie es die Leber ist, zur Erhaltung der spezifischen Zellfunktionen. Essentiell für das Erreichen dieses Ziels sind eine ausreichende Nährstoffversorgung aller Zellen und ein möglichst vollständiger Abtransport der anfallenden Metaboliten. Diese Funktionen der Zellversorgung hängen maßgeblich von der Flüssigkeits- und Massenverteilung im System ab. Insbesondere im Rahmen einer Therapie ist die benötigte Zeit, um eine zufrieden stellende Durchmischung des Plasmas im Bioreaktor zu erreichen, von Interesse.

1.2 Die Leber

1.2.1 Struktureller Aufbau der Leber

Die Leber hat beim erwachsenen Menschen ein Gewicht von durchschnittlich 1500 g³². Ihre Masse entspricht damit annähernd der des Gehirns. Makroskopisch ist ihr Erscheinungsbild sehr homogen und gleichförmig.

Die Leber gehört, bis auf ein kleines Areal unterhalb des Zwerchfells (Area nuda), zu den intraperitoneal gelegenen Organen. Äußerlich wird sie anhand des Verlaufs des Lig. falciforme hepatis zunächst in den größeren Lobus hepatis dexter und den kleineren Lobus hepatis

sinister unterteilt. Ein Zusammenhang zur inneren Aufteilung anhand der Blut- und Gallengefäße besteht bei dieser Aufteilung jedoch nicht. Chirurgisch wird die Leber anhand des Gefäßverlaufs zunächst in die beiden Hauptteile Pars hepatis dextra und Pars hepatis sinistra und anschließend weiter in insgesamt acht Segmente unterteilt^{33, 34}. Durch die an der Unterseite der Leber gelegene Porta hepatis erfolgt die charakteristische doppelte afferente Blutversorgung über die A. hepatica propria und die V. portae³⁵. Hier verlassen zusätzlich der Ductus hepaticus dexter und sinister die Leber, die sich zum Ductus hepaticus communis vereinen. An der Area nuda verlassen drei bis vier Vv. hepaticae die Leber und münden unter dem Zwerchfell in die V. cava inferior.

1.2.2 Mikroskopische Anatomie

Das Leberparenchym besteht aus verschiedenen Zelltypen mit unterschiedlichen Funktionen. Diese Zellen teilen sich auf in Hepatozyten (ca. 60 %) und die sog. Nicht-Parenchymzellen. Zu den Nicht-Parenchymzellen gehören die Sinusendothelzellen (ca. 30 %), die Kupfferzellen (ca. 10 %) und die Fettspeicher- oder ITO-Zellen und die PIT-Zellen (zusammen < 5 %)³⁶.

Das Leberparenchym lässt sich entweder strukturell in Leberläppchen (etwa 1,0 – 1,5 Billionen) oder funktionell in die Azini gliedern¹. Im Zentrum der Leberazini liegen die Glisson Triaden mit je einem Ast der A. hepatica propria, der V. portae und des Ductus choledochus. Zwischen den Azini liegen die sog. terminalen Lebervenen (Vv. centrales), die sich zu den Vv. hepaticae vereinen. Zwischen den Glisson Triaden und den terminalen Lebervenen bestehen Sauerstoff-, Kohlendioxid- und Metaboliten-Gradienten, die zu einer Unterteilung des Azinus in drei ineinander übergehende metabolische Zonen führen^{1, 37}:

- Zone I: periportal gelegene Zellen, hohes Angebot an Sauerstoff und Substraten
- Zone II: intermediär gelegene Zellen, reduziertes Sauerstoff- und Substratangebot
- Zone III: um die terminale Vene gelegene Zellen, niedriges Sauerstoffangebot und weitgehend abgeschlossene Substratumsetzung

Die Heterogenität der Hepatozyten bezüglich ihrer metabolischen Funktionen scheint dazu zu führen, dass verschiedene Stoffwechselreaktionen auf wenige Zellen innerhalb eines Azinus beschränkt sein können^{1, 37}.

1.2.3 Gefäßversorgung

Die Leber verfügt, wie bereits beschrieben, über eine für sie charakteristische doppelte afferente Blutversorgung. An der Porta hepatis dringen die V. portae und die A. hepatica propria in die Leber ein.

Die V. portae führt das metabolitenreiche Blut aus dem Verdauungstrakt. Ein Gefäßsystem mit einem niedrigen Widerstand und einem hohen Volumenstrom mit engem Kontakt zu den Mikrovilli der Hepatozyten ist nötig³⁸. Ihr Hauptstamm hat einen Durchmesser von 1,1 – 3,2 cm

und teilt sich bei 90 % der Menschen vor dem Eintritt in die Leberlappen in den Ramus dexter und den Ramus sinister. Seltener (10 %) bestehen zwei Rami dexter und ein Ramus sinister. Der linke Zweig teilt sich weiter in einen Pars transversa und einen Pars umbilicalis auf. Der rechte Zweig teilt sich entsprechend der anterioren und posterioren Segmente auf und verzweigt sich anschließend noch in superiore und inferiore Äste. Die V. portae und ihre Aufzweigungen besitzen keine Klappen, so dass sich ein Druckanstieg leicht auf den gesamten Gefäßbaum verteilt. Es bestehen vielfältige potentielle Anastomosen zur V. cava inferior, die unter normalen Bedingungen kein Blut führen, aber die Möglichkeit eines Kollateralkreislaufes bieten³⁸. In der V. portae herrscht ein Druck von etwa 6 – 10 mmHg.

Vor der V. portae verläuft die A. hepatica propria und teilt sie sich wie die Vene in einen Ramus dexter und Ramus sinister auf. Anatomische Variationen sind häufig, aber fast ausschließlich extrahepatisch gelegen. Der linke Zweig teilt sich bald in einen medialen und einen lateralen Anteil auf. Die arterielle Gefäßversorgung verläuft gemeinsam mit den Aufzweigungen der V. portae und dem Gallengangsystem. Zwischen den Gefäßzweigen der einzelnen Regionen bestehen kaum Anastomosen. Von den Rami dexter und sinister gehen aber jeweils subkapsuläre Gefäße ab, die einen diffusen subkapsulären Plexus und vielfältige Anastomosen bilden³⁸. In der A. hepatica propria herrscht etwa der gleich Druck wie in der Aorta.

Die Vv. centrales mehrerer benachbarter Leberläppchen vereinen sich zu den Vv. sublobulares³². Diese vereinen sich wiederum zu drei bis vier Vv. hepaticae, welche die Leber, wie bereits beschrieben, an der Area nuda verlassen und in die V. cava inferior münden. Zusätzlich existieren meist mehrere kleinere Venen, die aus dem hinteren oberen Bereich des Lobus dexter, dem Lobus caudatus und dem Bereich um die Gallenblase entspringen. Diese Venen münden meistens unterhalb der Vv. hepaticae in die V. cava inferior³⁸. Zwischen den Zweigen des efferenten Gefäßsystems bestehen vielfältige Anastomosen.

Die terminalen Äste der afferenten und der efferenten Gefäße befinden sich in den jeweiligen Azini so weit wie möglich von einander entfernt und liegen im 90° Winkel, also in unterschiedlichen Ebenen, zueinander. Sie werden durch die Sinusoide miteinander verbunden. Die terminalen Äste der V. portae haben einen Durchmesser unter 40 µm. Von ihnen zweigen Venolen ab und münden über kleine Öffnungen in die Sinusoide. Diese Öffnungen zeigen Sphinkter-ähnliche Aktivitäten^{37, 38}. Die terminalen Arteriolen mit einem Durchmesser von 10 – 50 µm und Kapillaren mit einem Durchmesser von 10 µm bilden ein dichtes Netzwerk im Portalfeld. Aus diesem Netzwerk wird das Portalfeld versorgt und die Gallenbildung unterstützt. Ein Teil der terminalen arteriellen Gefäße mündet in die Sinusoide oder direkt in die Vv. centrales³⁸. An den Einmündungsstellen in die Sinusoide gibt es Sphinktere, die den arteriellen Druck drosseln^{1, 38}. Dies ermöglicht eine Vereinigung der beiden afferenten

Blutströme ohne dass, aufgrund der unterschiedlichen Drücke, Turbulenzen entstehen¹. In den Sinusoiden selber herrscht ein Druck von etwa 2 – 3 mmHg.

Die Sinusoide sind hoch spezialisierte Kapillaren³⁸. Sie haben einen Durchmesser von 7 – 15 µm, der bei Bedarf bis auf 180 µm gesteigert werden kann. Ihre Länge beträgt etwa 220 – 480 µm³⁸⁻⁴⁰. Im Gegensatz zu anderen Kapillaren besitzen sie keine Basalmembran. Sie sind von flachen Sinusendothelzellen ausgekleidet, die in ihren Ausläufern von Poren, den sog. Fenestrae, durchsetzt sind. Diese Fenestrae haben meist eine Größe von 0,1 – 0,2 µm, können periportal aber bis zu 2 µm groß sein. Sie ermöglichen trotz des niedrigen Drucks einen effektiven Austausch auch großer Moleküle (bis 250.000 Dalton) zwischen den Sinusoiden und den Disse Räumen. Die Disse Räume befinden sich zwischen den Endothelzellen und den Hepatozyten. Ausläufer der Hepatozyten, die Mikrovilli, vergrößern die Oberfläche bzw. Austauschfläche in den Disse Räumen. Zwischen den Sinusendothelzellen sind Kupferzellen als Begrenzung der Sinusoide eingelagert. Sie sind größer als die Endothelzellen, ragen teilweise weit ins Lumen vor und penetrieren mit ihren Fortsätzen die Fenestrae um so einen direkten Kontakt mit den Hepatozyten herzustellen¹. Erythrozyten können die Fenestrae nicht passieren. Die Geschwindigkeit der Erythrozyten in den Sinusoiden wird je nach Autor zwischen $v = 270 - 410 \mu\text{m}/\text{sek}$ ($= 16,2 - 24,6 \text{ mm}/\text{min}$)³⁹ und $v = 0,97 \pm 0,43 \text{ mm}/\text{sek}$ ($= 58,2 \pm 25,8 \text{ mm}/\text{min}$) angegeben⁴⁰. Die Flussrate wird mit $58,2 \pm 9,6 \text{ pL}/\text{sek}$ ($= 3,5 \pm 0,6 \mu\text{L}/\text{min}$) beschrieben⁴⁰.

1.3 Funktionen der Leber

1.3.1 Synthese / Biotransformation

Die Biotransformation in der Leber (z.B. durch Oxidation/Reduktion, Hydrolyse, Konjugation) umfasst eine große Anzahl verschiedener Funktionen.

Trotz einer geringeren Masse als andere stoffwechselaktive Organe, wie z.B. die Muskulatur oder das Skelett, übertrifft die Leber diese Strukturen sowohl in der Quantität als auch in der Bedeutung der bekannten Reaktionen. Eine Vielzahl lebenswichtiger Prozesse wird durch leberspezifische Enzyme initiiert, realisiert und / oder reguliert. Endogene und exogene Stoffe werden von der Leber durch Um- oder Abbau verarbeitet.

In der Leber erfolgt die Synthese von lebenswichtigen Substanzen, die direkt an den Körper abgegeben oder in der Leber gespeichert werden können. Zu diesen Substanzen gehören z.B. die Mehrzahl aller Faktoren des Gerinnungs- und Fibrinolysesystems, Plasmaproteine (z.B. Albumin, Immunglobuline), Plasmalipoproteine, Enzyme (z.B. Cholinesterase, Cytochrom P450), Eikosanoide, sowie etwa 1 L Gallensäure täglich. Die Gallensäure besteht aus Cholesterin, Salzen und Abbauprodukten des Körpers, wie z.B. dem Bilirubin. Sie emulgiert

Fette im Darm ⁴¹. Im Rahmen der Biotransformation findet auch die Regulierung der Plasmaspiegel von Energielieferanten wie Aminosäuren, Lipiden oder Glucose statt.

Die Leber spielt eine wichtige Rolle bei der Aktivierung und Inaktivierung endokriner und parakriner Botenstoffe. So wird in der Leber unter anderem Thyroxin in das wesentlich aktivere Trijodthyronin umgewandelt und unter Einwirkung von somatotropem Hormon (STH) werden Somatomedine gebildet. Auch der Abbau der meisten Hormone erfolgt in der Leber, so z. B. von Steroidhormonen, Sexualhormonen und Peptidhormonen wie Insulin, Glukagon und STH.

Die Eliminierung nichtgasförmiger endogener (z.B. Ammoniak, Bilirubin) und exogener (z.B. Medikamente, Alkohol, Umweltschadstoffe) Substanzen ist ein weiterer lebensnotwendiger Funktionsbereich der Leber. Insbesondere die Umwandlung lipophiler Stoffe in nieren- oder gallengängige Metabolite ist leberspezifisch.

Im Rahmen der Biotransformation in der Leber kann es neben den gewünschten Produkten (Synthese, Detoxifikation, etc.) vereinzelt aber auch zu der Umwandlung eines zunächst „harmlosen“ Stoffes einen (hoch)giftigen Metaboliten kommen.

1.3.2 Regulation des Säure-Basen-Haushalts

Die Leber ist neben den Lungen und den Nieren maßgeblich an der Aufrechterhaltung eines physiologischen pH-Wertes im Körper beteiligt. Der Aminosäurestoffwechsel in der Leber beinhaltet den wichtigen Stickstoff- und Harnstoffzyklus. Dieser ist durch die Harnstoffsynthese aus Ammonium und Bicarbonat gekennzeichnet. Im Falle einer metabolischen Azidose kann das Ammonium alternativ über die Glutaminsynthese abgebaut werden. Durch renale Glutaminspaltung und Ausscheidung des Ammoniums über den Harn kann der Bicarbonatspiegel im Blut geschont bzw. konstant gehalten werden. Durch eine gesteigerte Harnstoffsynthese kann, im gegenteiligen Fall der metabolischen Alkalose, der Bicarbonatspiegel gesenkt werden. Die Hyperammonämie gilt als ein wichtiger Faktor bei der Entstehung einer hepatischen Enzephalopathie.

1.3.3 Immunsystem

Die Leber ist ein Teil des monozytären Phagozytosesystems (= MPS, früher: Retikuloendotheliales System) im Rahmen der unspezifischen Abwehr ¹. Die leberständigen Kupferzellen (auch: Kupffersche Sternzellen) stellen 80 – 90 % der sessilen (nicht im Blut kreisenden) Makrophagen. Durch Phagozytose werden Bakterien, Viren, Makromoleküle, größere Partikel u.ä. abgebaut. Indirekt wird, durch die Wirkung dieser Faktoren als Antigene, auch das spezifische humorale und zelluläre Immunsystem beeinflusst. Stimuliert durch Signalstoffe der Kupferzellen synthetisieren die Hepatozyten „Akute-Phase-Proteine“. Es handelt sich dabei um Proteasen und, in der Mehrzahl, um Antiproteasen. Sie dienen zur Regulation proteolytischer Reaktionskaskaden, wie sie z.B. im Rahmen des

Komplementsystems, des Kininsystems und des Hämostasesystems von Gerinnung und Fibrinolyse stattfinden.

1.3.4 Speicher

Die Leber wird ständig von ca. 20 % des Blutvolumens durchströmt. Dies entspricht etwa 1380 – 1510 ml/min/1,73 m² (= Körperoberfläche) bzw. 100 – 130 ml/min/100 g Lebergewebe³⁹. Das „gespeicherte“ Blutvolumen lässt sich sowohl aktiv als auch passiv beeinflussen¹. Aktiv lässt es sich durch ein Eröffnen bzw. Schließen der Sphinktere die den Zu- und Abfluss zu den Sinusoiden regulieren steigern. Passiv kann es durch einen venösen Rückstau gesteigert werden. Unterstützt wird der passive Mechanismus durch das Fehlen von Venenklappen in den Lebervenen. Durch die Reizung sympathischer Nerven oder hormonale Signale (Noradrenalin) kann die Entleerung der Speicher angeregt werden¹.

Die Leber dient des weiteren als Glykogenspeicher^{32, 35}. Speziell bei hohen Ausdauerbelastungen werden der Leber große Leistungen bezüglich der Bereitstellung und Umsetzung der verschiedenen Energieformen abgefordert. Bei Sportlern, die ein langjähriges Ausdauertraining absolviert haben, zeigt sich häufig eine reversible Lebervergrößerung³².

1.4 Regenerationsfähigkeit der Leber

Der gedankliche Ansatz für einen temporären Ersatz der Leberfunktion nicht nur als Ergänzung, sondern als Alternative zur OLTx, beruht auf der Erkenntnis, dass die Leber ein rasches, nicht limitiertes Regenerationspotential besitzt. Bereits die griechische Mythologie erzählt von Prometheus, der den Menschen das Feuer gab und zur Strafe an einen Fels gefesselt wurde, wo seine Leber fortwährend von einem Adler gefressen wurde und sich immer wieder regenerierte. Inwieweit den Griechen der Antik der Realitätsbezug dieser Sage bewusst war, ist nicht überliefert. Doch zeigen heutige Untersuchungen, dass theoretisch einige wenige Zellen ausreichen würden, um das komplette Organ wieder herzustellen.

Histo-pathologische Untersuchungen von im akuten Leberausfallskoma verstorbenen Patienten weisen zum Zeitpunkt ihres Todes häufig bereits Zeichen einer umfangreichen Regeneration auf.

Versuchstiere (Ratten, Hunde und Meerschweinchen) bei denen bis zu 80 % der Leber entfernt wurden, zeigten eine rasche Regeneration der Leber zur ursprünglichen Größe. Dieser Verlauf lässt sich bei Wiederholungen der Leberresektionen bis zu fünfmal im selben Individuum reproduzieren⁴².

Selbst bei Patienten mit zirrhotisch umgewandelten Leberstrukturen regeneriert sich die Leber nach einer Teilresektion zu ihrer ursprünglichen Größe^{43, 44}, wobei der Verlauf protrahiert ist und vom Alter der Patienten beeinflusst wird⁴⁵. Als positiver Zusatzeffekt zeigt sich, dass in

diesen Fällen das neu gebildete Gewebe eine bessere Qualität im Sinne eines Rückgangs des zirrhotischen Umbaus als das zuvor resezierte besaß^{43,44}.

1.5 Das Leberversagen

1.5.1 Allgemein

Die Vielfalt an sehr spezialisierten und differenzierten Funktionen der Leber bedingt, dass ein Versagen bzw. eine Mangelfunktion kaum durch den Körper kompensiert werden kann.

Der Ausfall der Leberfunktionen lässt sich nach der Genese (viral, toxisch, genetisch/angeborene Fehlbildung, etc.), dem Verlauf (akut vs. chronisch) und der Schwere (fulminant vs. subfulminant) der Erkrankung einteilen. Auf diese Unterschiede soll im Folgenden noch näher eingegangen werden. Das Patientengut für das in dieser Arbeit untersuchte System rekrutierte sich aus der Gruppe von Patienten mit einem akuten fulminant verlaufenden Leberausfallskoma. Miteingeschlossen wurden auch Patienten mit einem sog. „acute-on-chronic hepatic failure“ (AOCHF). Die Krankheitsgenese war insoweit Ein- bzw. Ausschlusskriterium, als dass Patienten mit einem chronischen Abusus toxischer Substanzen ausgeschlossen wurden. Daher wird im Folgenden auch nur näher auf das akute Leberversagen (ALV) eingegangen. Diese Studie beschäftigt sich mit *in vitro* Testungen und ist daher unabhängig von den für eine Therapie in Frage kommenden Patienten.

Die möglichen Ursachen eines Leberversagens sind vielfältig und unterliegen in ihrer Häufigkeit geographischen Unterschieden. In Deutschland handelt es sich meist um eine virale (HAV, HBV mit oder ohne Delta-Superinfektion, NonA-NonB-Non-C Hepatitis) oder toxische (z.B. *Ammanita phalloides* (Knollenblätterpilz), idiosynkratische Medikamentenreaktionen) Genese sowie um angeborene Fehlbildungen (M. Wilson, Budd-Chiari-Syndrom) oder die Folge einer Sepsis¹⁰. Paracetamol nimmt bei den Intoxikationen eine besondere Stellung ein, da es in Deutschland, wie in den meisten anderen Ländern, rezeptfrei und somit sehr leicht zugänglich ist. Bereits eine Dosis > 6-8 g/24 h kann toxisch sein⁴⁶. Bei Kindern oder vorbestehenden Leberschäden kann die kritische Dosis sogar noch niedriger liegen. Die Häufigkeit der Intoxikationen ist von Land zu Land sehr unterschiedlich. In Großbritannien z.B. ist eine Paracetamol-Überdosis eine „beliebte“ Suizid-Methode. Der Anteil an Paracetamol Intoxikationen unter allen Patienten mit einem ALV liegt dort bei 54 %⁷.

Klinisch äußert sich das akute Leberversagen, neben dem Auftreten eines Ikterus, durch eine Vielzahl biochemischer Veränderungen aufgrund des Verlustes der Leberfunktion als Folge einer massiven hepatozellulären Degeneration. Zu diesen Veränderungen gehören unter anderem:

- Anstieg hepatischer intrazellulärer Enzyme (z.B. ALT, AST, GLDH)

-
- Abfall leberabhängiger Gerinnungsfaktoren (z.B. I, II, V, VII, IX, XI, XIII)
 - Hypoproteinämie, Hypalbuminämie
 - Abfall HDL- und LDL-Cholesterin
 - Hypoglykämie
 - Hyperinsulinämie
 - Hyperbilirubinämie (tBili und cBili)
 - Anstieg des Serumlaktats
 - Quantitative und qualitative Veränderungen der freien Aminosäuren
 - Hyperammonämie und Abfall des Harnstoffspiegels
 - Anstieg aromatischer Substanzen (z.B. Phenole)
 - Anstieg kurz- und langkettiger Fettsäuren
 - Thrombozytopenie
 - Metabolische Alkalose / Azidose
 - Hybernatriämie, Hypophosphatämie, Magnesiummangel

Im Verlauf kommt es zu einer hepatischen Enzephalopathie mit Hirnödem und erhöhtem cerebralem Hypertonus⁴⁷, Störungen der Nierenfunktionen, respiratorische Störungen, hyperdynamisches Kreislaufversagen mit Vasodilatation, Stressulcera, Blutungen und einer disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC). Bei einem protrahierten Verlauf kann es zusätzlich zu einer Schwächung des Immunsystems mit erhöhter Infektanfälligkeit kommen⁴⁸.

Unklar ist, weshalb Patienten mit AOCHF im Allgemeinen kein Hirnödem entwickeln, wohingegen Patienten ohne eine chronisch verlaufende Lebererkrankung, also im akuten Leberversagen, häufig eine rasch progrediente intracraniale Hypertension entwickeln¹⁸.

1.5.2 Das akute Leberversagen (ALV)

Das akute Leberversagen ist ein plötzlich einsetzendes, rasch progredientes, lebensbedrohliches Krankheitsbild. Trey und Davidson definieren es als Auftreten einer Enzephalopathie innerhalb von 8 Wochen nach Auftreten eines Ikterus bei zuvor lebergesunden Patienten⁴⁹. Initial kommt es zu einer massiven hepatozellulären Degeneration, einhergehend mit dem Verlust sämtlicher Leberfunktionen. In der Folge kann es, wie bereits unter 1.5.1 beschrieben, zu einer hepatischen Enzephalopathie (Tab. 1) bis hin zum Hirnödem und hepatischem Koma (Tab. 2) kommen. Des Weiteren kann es zu den bereits erwähnten Störungen der Nierenfunktion und des Säure-Base-Haushalts, zur hämorrhagischen Diathese mit GIT-Blutungen und letztlich einer DIC, zur Hypoglykämie, zu respiratorischen Komplikationen, zu einer Dysregulierung des Kreislaufs und, aufgrund der Schwächung des Immunsystems, zu einer erhöhten Infektanfälligkeit mit Sepsis kommen⁴⁹.

Bernuau und Mitarbeiter haben, auf der Basis retrospektiver Analysen zu Krankheitsverlauf und Überlebensrate, das ALV weiter in ein fulminantes ALV (Entwicklung der Erkrankung innerhalb von 2 Wochen) und ein subfulminantes ALV (Aufreten einer Enzephalopathie zwischen zweiter und 12. Woche) unterteilt⁵⁰. Dabei scheint der fulminante Krankheitsverlauf prognostisch etwas günstiger zu sein¹⁰. Insgesamt konnten Weiterentwicklungen in der intensivmedizinischen Behandlung die Prognose bei konservativer Therapie des ALV, seit sie 1834 von GRIFFIN mit einer Letalität von 80 - 90% angegeben wurde, etwas verbessern. Die Letalität des ALV wird aber immer noch, je nach Ätiologie, Verlauf und Patienten mit insgesamt 40 - 90 % angegeben⁸⁻¹⁰. Für Patienten über 30 Jahre geht die Überlebensquote bei konservativer Therapie gegen Null⁵¹.

Tab. 1: Gradeinteilung der hepatischen Enzephalopathie^{10, 49}

GRAD	Bewusstseinslage und Intellekt	Persönlichkeit, Auffälligkeiten	Neurologische Veränderungen	EEG
0	Normal	Unauffällig	Keine	Keine
Subklinisch	Normal	Unauffällig	Nur in psychomotorischen Tests	Keine
I	Unruhe, verschobener Schlaf-Wach-Rhythmus	Vergesslich, leichte Verwirrtheit, erregt, reizbar	Leichter Tremor, Apraxis, Koordinationsstörungen, veränderte Handschrift	Verlangsamt, 5-cps, triphasische Wellen
II	Lethargie, langsame Reaktionen, Sphinkterkontrolle möglich	Zeitlich desorientiert, Amnesie, verminderte Hemmungen, inadäquates Verhalten	Asterixis, Dysarthrie, Ataxie, verminderte Reflexe, Tremor	Verlangsamt mit triphasischen Wellen
III	Somnolent, aber erweckbar, zusammenhanglose Sprache	Örtlich desorientiert, aggressiv, Babinski-Zeichen, Muskel-Rigor	Asterixis, gesteigerte Reflexe, meist Tremor (wenn Patient kooperieren kann)	Verlangsamt mit triphasischen Wellen
IV	Koma, nicht erweckbar	Keine Funktion	Dezerebration, kein Tremor	Langsame 2-3 cps, δ-Wellen

Tab. 2: Einteilung einer Bewusstseinsstörung nach der Glasgow-Komaskala ⁵².

Prüfung	Reaktion	Bewertung
Augen öffnen	spontan	4
	auf Anruf	3
	auf Schmerzreiz	2
	nicht	1
Motorik	nach Aufforderung	6
	gezielte Abwehrbewegungen	5
	Massenbewegungen	4
	Beugesynergien	3
	Strecksynergien	2
	keine	1
Sprache	orientiert, klar	5
	verwirrt	4
	einzelne Wörter	3
	einzelne Laute	2
	keine	1
Bewertung: Summe aller Reaktionen, d.h. 3 – 15 Pkt.		

1.6 Therapieoptionen

Derzeit existiert keine kausale konservative Therapie zur Behandlung des ALV. Die 1963 von Prof. Dr. Thomas E. Starzl et al. ⁵³ erstmals durchgeführte Transplantation einer allogenen Spenderleber ist daher die Therapie der Wahl. In Deutschland erfolgte die erste Transplantation einer allogenen Spenderleber am 18. Juni 1969 in Bonn durch Prof. Alfred Gütgemann und T.S. Lie ^{54, 55}. Durch die Verbesserungen auf den Gebieten der Pharmakologie (nebenwirkungsärmere, spezifischere Immunsuppressiva), der Anästhesie (schonendere Narkoseverfahren) und der Operationstechniken (z.B. Gallenganganastomose nach Neuhaus ⁵⁶⁻⁵⁸), einhergehend mit einer intensiveren interdisziplinären Zusammenarbeit, konnte in den letzten Jahren die Funktionsrate nach einer allogenen Lebertransplantation deutlich verbessert werden. Sie liegt gegenwärtig, ohne Berücksichtigung der Krankheitsgenese, in Deutschland bei 80 % nach einem und 65 % nach fünf Jahren ⁵⁹. Insgesamt wurden weltweit bisher ca. 74.000 allogene Lebertransplantationen durchgeführt, davon rund 7.000 in Deutschland ⁵⁹.

Diese derzeit vielversprechendste Therapie kann jedoch nur bei ca. 10% der theoretisch in Frage kommenden Patienten durchgeführt werden. Die Gründe hierfür sind:

1. Insgesamt besteht ein Mangel an Spenderorganen: im Jahr 2004 führte Eurotransplant 2035 Patienten auf der Warteliste für eine Lebertransplantation, aber nur 1368 Transplantationen erfolgten (106 Transplantate von Lebendspendern und 1262 von hirntoten Spendern) ⁵⁹.
2. Im fulminanten ALV steht häufig nicht rechtzeitig ein passendes Organ zur Verfügung.

3. Der Allgemeinzustand einiger Patienten gestattet einen derart schweren operativen Eingriff nicht mehr (z.B. bei Sepsis oder zu hohen Hirndrücken).

Tragischer Weise kann es bei zunächst noch unklarer Genese auf Grund des Zeitmangels bei der Festlegung des Prozederes zu einer falschen bzw. unsicheren Einschätzung der Prognose und daraus resultierend zu einer sog. Übertransplantation kommen.

Die Lebendspende, mit Teilstücken zwischen 120 und 250 g, stellt eine mögliche Alternative bei Spendermangel dar. Sie findet meist von einem Elternteil auf ein schwer leberkrankes Kind statt. Diese Leberresektionen sind aufgrund der Gliederung der Leber in die aus jeweils 4 Segmenten bestehenden Hauptlappen Pars hepatis dextra und sinistra möglich. Die Aufteilung folgt den oben beschriebenen Blutgefäß- und Gallengangsstrukturen und ist äußerlich nicht erkennbar. Durch die Resektion eines oder mehrerer Segmente lassen sich peri- und postoperative Komplikationen, wie z.B. eine Nachblutung, reduzieren. Die Segmentgrenzen lassen sich dabei z.B. durch das Abklemmen der jeweiligen zuführenden Gefäße und ein daraus resultierendes Abblassen des Lebergewebes darstellen³³. Jedes 10.000. Kind in Deutschland leidet z.B. an einer angeborenen Gallengangsfehlbildung, die im Rahmen einer Leberzirrhose oft schon innerhalb der ersten zwei Lebensjahre zum Tode führt. Knapp die Hälfte der Spendewilligen muss jedoch auf Grund medizinischer oder psychologischer Aspekte abgelehnt werden. Auch liegen für die Spender die Sterblichkeitsrate mit ca. 0,7 % und die Komplikationsrate (z.B. Wundheilungsstörungen, persistierender Wundschmerz, Peritonitis, Blutungen oder Probleme an den Gallengängen) mit ca. 5 % relativ hoch. 2004 lag der Anteil der Lebendspenden bei einer Lebertransplantation bei 8,4 %⁵⁹.

Ansätze zur Bewältigung des Mangels an Spenderorganen, wie die Xenotransplantation, „Frischzellentherapie“ und Gewebeersatz durch tissue engineering oder durch Züchtung aus Stammzellen bleiben Ergebnisse zum erfolgreichen und vor allem bedenkenlosen Einsatz bisher schuldig⁹.

Bei der extrakorporalen Perfusion tierischer Organe kommt es zum Phänomen der (hyper-)akuten Abstoßungsreaktion, welche vorwiegend über eine komplementvermittelte Zytotoxizität sowie durch zellulär und humoral zytokinvermittelte Komplikationen zu einer (funktionellen) Zerstörung des Organs führt. Immunglobuline M und G (IgM, IgG) lagern sich dabei an den Gefäß- und Sinusendothelien an. Bei porcinem Xenograft passiert dies z.B. innerhalb weniger Stunden. Bei wiederholter Therapie sind zusätzlich Reaktionen vom anaphylaktische Typ nicht auszuschließen.

Die Xenotransplantation unterliegt prinzipiell denselben Mechanismen. Starzl et al. berichteten 1993 über den Verlauf einer xenogenen OLTx (vom Pavian auf den Menschen). Unter Immunsuppression konnten sie, bei einer 70-tägigen Überlebenszeit, histologisch kaum Abstoßungsreaktionen feststellen. Es herrscht jedoch Unklarheit über die Risiken einer

Aufhebung der natürlichen Barrieren für Vektoren zwischen Menschen und Tieren. Die Wahl einer dem humanen Genom möglichst ähnlichen Primaten-Rasse und deren anschließende Aufzucht zum Organersatz ist ethisch höchst anfechtbar.

Weder die Einsetzbarkeit noch die potentiellen Risiken dieser Ansätze sind bisher geklärt. Auch würden diese Konzepte keine Verbesserung in der Behandlung von auf Grund des Allgemeinzustandes inoperablen Patienten oder einen Zeitgewinn zur Prognosesicherung bringen. Sie könnten „nur“ den Organmangel beheben.

Ein temporär einsetzbares Leberunterstützungssystem (LUS) kann diese Situation hingegen wesentlich verbessern, da es verschiedene Einsatzmöglichkeiten bietet:

1. Schließen des Zeitfensters bis zur Transplantation bzw. bis zur definitiven Prognosesicherung
2. Stabilisieren des Allgemeinzustandes von primär nicht narkose- bzw. operationsfähigen Patienten
3. Schaffen eines „elektiven“ OP-Settings gegenüber einer Notfall-Operation durch eine größere zeitliche Flexibilität mit einer entsprechend besseren Prognose
4. Überbrückung einer primary graft poor function bzw. primary graft failure - einer initialen Unter- bzw. Nichtfunktion des transplantierten Organs ohne erkennbare technische oder immunologische Gründe (bei 3-8% der OLTx und damit eine der Hauptursachen für post-operative Mortalität)
5. Initiale Unterstützung nach Transplantation einer Splitt-Leber (von einem toten oder einem lebenden Spender)
6. Unterstützung der akuten - oft reversiblen - Dekompensation einer chronischen Leberinsuffizienz (acute-on-chronic)
7. Unterstützung bei Resektatmangelfunktion nach Leberteilresektion bzw. die Möglichkeit einer wesentlich radikaleren Vorgehensweise bei Teilresektionen (mit entsprechend niedrigerer Rezidivrate bei Neoplasien)
8. Unterstützung bei akuten Krisen angeborener Stoffwechselkrankheiten im Kindesalter
9. Im Idealfall Verhindern eines kritischen Organversagens im ALV bis zur natürlichen Regeneration der Leber

Diese Möglichkeiten begründen einen dringenden Bedarf an einem derartigen System.

1.7 Bisherige Lösungsansätze für *ex vivo* Systeme

1.7.1 *Ex vivo* Leberperfusion

Pionier der extrakorporalen Leberunterstützung waren Otto und Mitarbeiter, die 1958 erste Versuche an Hunden starteten⁶⁰. 1964 therapierte Sen an der Universität in Bombay, Indien

erstmalig fünf Patienten im ALV mittels extrakorporaler Vollleberperfusion⁶¹. Er nutzte hierfür humane Spenderlebern. Vier der Patienten starben innerhalb der ersten zwei Tage, der Fünfte erholte sich vollständig. Nur einen Monat später stellte Eiseman die extrakorporale Leberperfusion unter Verwendung von Schweinelebern vor⁶². Auf Grund dieser zeitlichen Überschneidungen wird Eiseman weitläufig als Erstanwender dieser Therapie am Menschen genannt. Zu den Methoden der *ex vivo* Leberperfusion gehören des Weiteren die Hämoperfusion von Leberteilstücken bzw. Lebergewebe⁶³, die so genannte *cross-circulation*⁶⁴ (ein Shunt zwischen dem Blutkreislauf des Patienten und einem gesunden Menschen oder Tier), und Versuche der Vollleberperfusion anderer Gruppen⁶⁵⁻⁶⁷. Technische Probleme, ein früher Funktionsverlust der perfundierten Organe, meist aufgrund einer hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktion, und die mangelnden Oxygenierungsmöglichkeiten gehörten zu den schwerwiegendsten Problemen dieser Behandlungsmethoden⁶⁸. Entsprechend konnte sich keine von ihnen klinisch durchsetzen.

Die bisherigen Lösungsansätze zur künstlichen Leberunterstützung lassen sich nach ihrem Hauptwirkprinzip in physikalische Systeme („cell-free“ / „non-biological“) und biologische Systeme („cell-containing“ / „biological“) unterteilen. Wie die englischen Bezeichnungen andeuten, besteht der grundlegende Unterschied in der Integration von leberspezifischen Zellen bei den biologischen Systemen.

1.7.2 Physikalische / Nicht-biologische Systeme

Diese Systeme basieren meist auf dem Prinzip der Toxinentfernung mittels Membranen und Adsorbentien⁶⁹, ähnlich der Dialyse bei Niereninsuffizienz. Die herkömmliche Dialyse ist allerdings aufgrund der Vielzahl von proteingebundenen Substanzen keine effiziente Therapieoption beim Leberversagen. Es erfolgt eine größenabhängige Entfernung von Molekülen aus dem Plasma bzw. Vollblut, definiert durch die Porengröße der Membran. Im Allgemeinen bestehen die Vorteile der physikalischen Systeme in einer guten Verfügbarkeit und einer einfachen Handhabung. Von Nachteil ist vor allem, dass die Systeme „wertfrei“ nur nach der Größe Moleküle entfernen. Sie bieten somit eine relativ unspezifische Aufbereitung des Plasmas bzw. Blutes. Die Synthese von leberspezifischen Proteinen oder anderen hepatotropen Faktoren ist prinzipiell ausgeschlossen. Die Erfolge in der orthotopen Lebertransplantation belegen jedoch die Bedeutung der Kombination aus Entgiftung und metabolischen Leistungen durch die Leber beim outcome der Patienten. Die physikalischen Systeme scheinen daher, wenn überhaupt, eher für den kurzfristigen Einsatz bei mittelschwer betroffenen ALF Patienten geeignet. Zu den bisher untersuchten Methoden gehören die Hämodialyse, die Hämofiltration, die Hämoperfusion, die Hämodiafiltration, die

Hämodiabsorption und die Plasmapherese, sowie Kombinationen der genannten Methoden. Die dabei verwendeten Techniken und die Therapieerfolge sind in Tab. 3 aufgelistet. Die bei einzelnen Patienten positiven Resultate konnten in kontrollierten Studien bei den meisten Systemen nicht reproduziert werden ⁷⁰. Abgesehen vom MARS (s.u.) konnte keins der untersuchten Systeme eine Verbesserung der Überlebensrate bewirken.

Tab. 3: Physikalische / Nicht-biologische Systeme zur Therapie des ALV

	System / Prinzip	angewandte Technik	Therapieergebnisse
1	Hämodialyse	Diffusion über eine semipermeable Membran zwischen Blut und Dialysat	Verbesserung des Koma Stadiums
2	Hämodifiltration	Kontinuierliche konvektive Reinigung der Lösung über eine permeable Membran	lediglich Einzelfallbeschreibungen
3	Hämo-perfusion	Perfusion (Blut/Plasma) über Aktivkohle, neutralisierende Kunstharze oder Anionen Austauscher	Entfernung von Toxinen, Verbesserung des mentalen Status
4	Hämodiafiltration	Entfernung großer (Konvektion) und kleiner (Diffusion) Moleküle über eine Membran	Einzelfallbeschreibungen mit Verbesserung von biochem. Parametern und neurol. Status
5	Hämodiabsorption	Dialyse über eine Kombination aus Aktivkohle und Kationen Austauscher	Verbesserung von biochem. Parametern und klin. Status
6	Großvolumige Plasmapherese	Austausch großer Plasma Volumina (Rückführung der Erythrozyten)	Verbesserung von biochem. Parametern und klin. Status
7	“Artificial Liver Support System” (ALSS)	Kombination von 1-6	Verbesserung von biochem. Parametern und klin. Status
8	„PF-Liver Dialysis“	Kombination von 5 mit einer Lipophorese im Gegenstrom	Verbesserung von biochem. Parametern und klin. Status
9	Albumin Dialyse System	Wie 4 mit einem Albumin Dialysat ohne Rezirkulation	Verbesserung von biochem. Parametern und klin. Status
10	Molekulare Adsorbentien Rezirkulierende System (MARS)	Entfernung proteingebundener und wasserlöslicher Substanzen über eine Albumin imprägnierte Membran gegen ein rezirkulierendes Albumin angereichertes Dialysat (s.u.)	Verbesserung von biochem. Parametern und klin. Status, als einziges System signif. Verbesserung der Überlebensrate einer Behandlungsgruppe

Stange und Mitzner et al. (Rostock, Deutschland) stellten 1993 erstmal das von ihnen entwickelte Molekulare Adsorbentien Rezirkulierende System (MARS) vor ⁶⁹. Mit über 3000 Anwendungen hat sich das System in Europa und mehreren asiatischen Ländern in der extrakorporalen Leberunterstützung etabliert ⁷¹. Das Indikationsspektrum umfasst unter anderem das fulminante ALV ⁷¹⁻⁷⁴, das primäre und verzögerte Transplantatversagen ⁷¹⁻⁷⁴, das akute Leberversagen bei chronischer Lebererkrankung ⁷¹⁻⁷⁵, Leberversagen nach Leberteileresektion ⁷²⁻⁷⁴ oder bei Verbrennungen, Sepsis oder Trauma, das hepatorenale Syndrom ^{70, 74}, sowie den persistierenden Pruritus bei cholestatischem Syndrom ^{71, 74}.

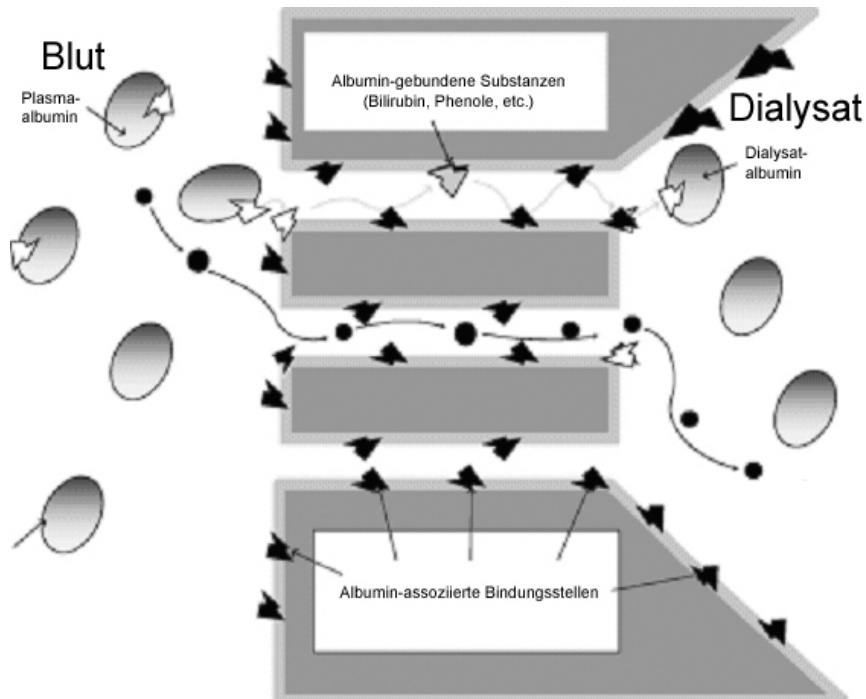


Abb. 1: Mars Membran mit konischen Öffnungen zur Dialysat (Albumin) Seite hin (modifiziert nach Kapoor et al. ⁷⁴).

Das MARS besteht aus drei Kreisläufen mit insgesamt zwei Dialysemembranen ⁷¹⁻⁷⁵, die sowohl wasserlösliche als auch albumingebundene Substanzen entfernen können. Zunächst wird über die MARS Membran das Blut gegen eine Albuminlösung dialysiert. Die Albuminlösung befindet sich in einem geschlossenen Kreislauf (600 ml, 10 % bzw. 20 % humanes Serum Albumin). Sie wird mittels Dialyse über eine herkömmliche Membrane zur Hämofiltration bzw. zur Hämodialyse sowie durch die Passage durch einen Aktivkohlefilter und einen Anionenaustauscher regeneriert. Gleichzeitig können wasserlösliche Stoffe entfernt werden. Durch die Regeneration der Albuminlösung können die Kosten für das System deutlich reduziert werden. Die MARS Membran besteht aus Polysulfon ⁶⁹, hat eine Oberfläche von ca. 1,3 m², eine Dicke von ca. 100 nm und eine Porengröße von ca. 50 kD ^{69, 74}. Die Poren haben eine asymmetrische Struktur mit konusförmigen, zur Dialysat (Albumin) Seite hin größeren Öffnungen (s. Abb. 1). Die Albumin Moleküle können sich dadurch in der Membran festsetzen und somit ihre Affinität zu albumin-gebundenen Toxinen / Stoffen erhöhen ⁷⁶. Der Blutkreislauf wird über einen veno-venösen Doppel-Lumen Katheter bei einer Flussrate von 150 – 250 ml/min mit dem System verbunden. Die Flussrate im Kreislauf der Albuminlösung beträgt 150 ml/min. Die einzelnen Therapie-Einheiten haben eine Dauer von durchschnittlich 6 - 8 Stunden, bei einer bis 24 Therapien pro Patient. Diese Parameter werden an den klinischen Allgemeinzustand und speziell an den hämodynamischen Status des Patienten angepasst ⁷⁴.

Die bisher veröffentlichten Daten zum MARS sind äußerst viel versprechend ^{72, 77, 78}. Bei den behandelten Patienten zeigten sich signifikante Verbesserungen des neurologischen Status und signifikante Absenkungen der Werte für Kreatinin, Ammoniak und Bilirubin im Serum, sowie eine Senkung der Mortalität, bei gleich bleibendem hämodynamischen Status. Da die Patienten gleichzeitig intensivmedizinisch betreut wurden (unter anderem Behandlungen mit Plasma und / oder Blut) lässt sich derzeit keine sichere Zuordnung der therapeutischen Effekte vornehmen ⁷². Es scheint aber berechtigt, das System als gut tolerabel in der Therapie zu bezeichnen.

Die Ergebnisse zweier derzeit in Europa und Amerika laufender Multicenter Studien zur Effektivität des MARS stehen noch aus ⁷¹. Trotz der viel versprechenden Ergebnisse ist das System letztlich auf die Eliminierung von (schädlichen) Stoffen aus dem Blutkreislauf limitiert, mit der nicht auszuschließenden Möglichkeit dass auch „gute“ (z.B. hepatotrophe) Faktoren entfernt werden. Synthese oder Biotransformation vermag es nicht zu leisten. Somit wird eine grundlegende Anforderung an ein System mit dem Potential zur längerfristigen Überbrückung eines Leberausfalls nicht erfüllt.

1.7.3 Biologische Systeme

Die Anforderungen bei der Konstruktion eines künstlichen Ersatzes der Leberfunktionen lassen sich offensichtlich nicht mit den Anforderungen an die physikalisch/chemisch arbeitenden Geräte zum Ersatz der Herz- oder Nierenfunktion vergleichen. Der Ausfall der bereits beschriebenen vielfältigen verschiedenen Leberfunktionen führt im ALV zu erheblichen biochemischen Veränderungen. Z.B. scheinen Störungen im Hormonhaushalt ⁷⁹ und erhöhte Zytokinspiegel ⁸⁰⁻⁸² für die Veränderungen des peripheren Widerstandes, der Mikrozirkulation und der Nierenfunktion verantwortlich zu sein. Die neurologischen Symptome werden auf Ammoniak, Phenole, Fettsäuren, Mercaptane und sog. Mittelmoleküle zurückgeführt ¹⁰. Gammaaminobuttersäure soll die „endogene Narkose“ bei der hepatischen Enzephalopathie verursachen ¹⁰. Die genaue Pathogenese sowie kausale Zusammenhänge zwischen der hepatischen Enzephalopathie, dem hyperdynamen Kreislaufversagen und der Niereninsuffizienz konnten trotz intensiver Forschung nach wie vor in ihrer Komplexität nicht vollständig geklärt werden ^{10, 83}.

Die Unmöglichkeit, diese komplexen, zellspezifischen Funktionen künstlich zu ersetzen, führte in den 70er Jahren zur Entwicklung sog. hybrider Organe. Lebende Zellkulturen – zum Ersatz der biochemischen Leistungen – werden in künstlicher Umgebung angesiedelt.

In den Systemen mit leberspezifischen Zellen werden diese in Kulturen künstlich am Leben gehalten. Das System wird mit dem Plasma oder Vollblut des Patienten um- bzw. durchströmt.

Der entscheidende Vorteil sind die spezifischen biochemischen Leistungen. Sie ersetzen die Funktionen der Patientenleber (z.B. Synthese, etc.) wesentlich umfassender als ein rein künstliches System. Von Nachteil sind die relativ hohen Kosten, die mitunter komplizierte Handhabung und die Gefahr einer immunologischen Reaktion sowie die Möglichkeit der Übertragung von Zoonosen (Infektionskrankheit die gleichermaßen beim Menschen und beim Tier auftritt) bei xenogenen Spenderzellen.

Im Folgenden sind einige bereits im Einsatz am Patienten getestete hybride Systeme in der Reihenfolge ihrer Erstbeschreibung dargestellt. Zumeist handelt es sich dabei um Studien zur Sicherheit der jeweiligen Systeme, vereinzelt aber auch um kontrollierte Studien zum klinischen Nutzen der Therapie. Tab. 4 zeigt eine Übersicht zu den Charakteristika der Systeme.

Matsumura et al., Berkley, California, USA 1987 ¹⁷

Ein Kiil-Typ Dialysator (Flachbett-Dialysator) gefüllt mit einer Suspension aus 10^{10} zuvor kryokonservierten primären Hasen-Hepatozyten (ca. 100 g Zellpellet) als Dialysat. Die Zellsuspension wurde erst direkt vor Therapiebeginn aufgetaut. Die verwendete Membran war durchlässig für Partikel mit niedrigem bis mittlerem Molekulargewicht (keine genaueren Angaben zum cut-off) mit einer Austauschoberfläche von etwa 1 m². Der Dialysator wurde während der Therapie in einem 40°C Wasserbad temperiert. Die Zirkulation erfolgte arterio-venös (A. radialis - V. basilaris) und wurde im Wesentlichen durch den Blutdruck des Patienten erzeugt und nur ersatzweise von einer Pumpe übernommen. Der Volumenfluss lag bei ca. 145 ml/min Vollblut. Das System besaß eine hohe Sicherheit gegenüber einer Vermischung der zellulären Anteile, jedoch war die Zellvitalität auf maximal 10 h begrenzt. Bis auf eine Einzelfallschilderung zu einem acute-on-chronic Patienten (inoperables Gallengangskarzinom) gibt es trotz positivem outcomes keine weiteren Berichte über einen Einsatz des Systems. Der beschriebene Patient wurde zweimal für 4,5 bzw. 5 Stunden behandelt und überlebte ohne eine Lebertransplantation. Therapiebedingte Nebenwirkungen wurden nicht beschrieben. Eine Weiterentwicklung mit Monolayern auf Glasplatten erhöhte die Zellvitalität auf 65 h, war auf Grund des immensen benötigten Volumens des Systems jedoch nicht praktisch umsetzbar.

Margulis et al., Riga, Lettland, UdSSR, 1989 ²⁹

Hämoperfusion durch 20 ml große PVC Kapseln in die 4×10^7 porcine Hepatozyten gefüllt wurden. Im Auslass befand sich ein Nylon-Filter der mit mit Aktivkohle beschichteten Quartz-Glas-Granula gefüllt war. Die Kapseln wurden in einen arterio-venösen Unterarm Shunt (A. radialis - V. cubitalis) implantiert und während der insgesamt 6-stündigen Behandlungen stündlich durch frische Kapseln ersetzt. Der Blutfluss durch die Kapseln betrug 90 ml/min. In einer kontrollierten Studie wurden 59 mit dem System behandelte Patienten mit 67 Kontroll-

Patienten verglichen. Alle Patienten zeigten vor Beginn der Behandlung klinisch und im EEG eine hepatische Enzephalopathie und erhielten eine intensivmedizinische Betreuung. In die Studie eingeschlossen wurden Patienten mit ALV und AOCHF (Virushepatitiden, toxisch, Sepsis, Cholestase, Leptospirose). Trotz einer Verbesserung des neurologischen Status (EEG) und einer 50%igen Reduktion des initialen Ammoniak-Niveaus konnte keine maßgebliche Verbesserung der Überlebensrate erreicht werden. In der behandelten Gruppe lag die Mortalität bei 46%, in der Kontroll-Gruppe bei 61%. Die Einteilung der Gruppen war bezüglich der Ätiologie sowie der Verteilung von Patienten mit einem Enzephalopathie Grad III-IV und höher uneinheitlich (Therapie = 33,9% vs. Kontrolle = 44,7%). Auch stehen die geringe Zellmasse und die kurzen Behandlungsintervalle im Widerspruch zu den erzielten Ergebnissen. Zu diesem System gibt es ebenfalls keine Berichte über weitere Einsätze.

Sussman, Kelly et al., Huston, Texas, USA , 1992 ¹⁹⁻²³: (Extracorporeal Liver Assist Device = ELAD)

Hämoperfusion durch ein Hohlfasermembran-System mit einem Kapillarbündel. Das Zellkompartiment wird zunächst mit ca. 20 g Hepatoblastom Zellen (Hep-G2 C3A) gefüllt. Diese Zellen besitzen, im Gegensatz zu nativen Hepatozyten, die Möglichkeit *in vitro* zu proliferieren. Bei einer Zellmasse von etwa 200 – 400 g je Modul wurden die Zellen bis zur Therapie kryokonserviert. Die Zirkulation erfolgt veno-venös über eine Rollerpumpe mit einem Volumenfluss von 150 – 300 ml/min Vollblut. Die Flussrate im Reaktor betrug 150 - 200 ml/min und der Stoffaustausch erfolgte über Diffusion und Mikrofiltration. In einer Kontrollstudie zur Sicherheit des Systems wurden 24 Patienten mit ALV randomisiert in eine ELAD Behandlungsgruppe und eine Kontrollgruppe unterteilt. 17 der Patienten hatten eine gute Prognose mit einem potentiell reversiblen Leberschaden und 7 der Patienten wurden bereits auf der Transplantationsliste geführt. Die mittlere Behandlungsdauer mit dem ELAD betrug 72 Stunden (3 - 168 h). Zwei Patienten mussten aufgrund einer sich verschlechternden, vorbestehenden DIC, bzw. aufgrund einer hyperakuten Abstoßungsreaktion von der Studie ausgeschlossen werden. Von den Patienten mit guter Prognose überlebten in der behandelten Gruppe 7 von 9 gegenüber 6 von 8 in der Kontrollgruppe. Von den zur Transplantation angemeldeten Patienten überlebte in beiden Gruppen einer, jeweils mit Transplantation. Die Autoren merken selber an, dass die Überlebensrate der Patienten mit guter Prognose in der Kontrollgruppe höher lag als erwartet. Die Spiegel für Ammoniak und totales Bilirubin nahmen unter der ELAD Therapie zu (8% und 20%). Es konnte bisher kein Nachweis geführt werden, dass Hep-G2 C3A Zellen ihre Funktionen auf dem Niveau primärer humaner Hepatozyten erfüllen. Insgesamt verlieren die etablierten Zelllinien häufig vollständig ihre Funktion oder erfüllen weniger als 10 % der leberspezifischen Funktionen ⁸⁴. Ein Hinweis, dass sich die

Mortalität der Patienten senken lässt, konnte nicht erbracht werden. Auch können Filiae bei den (immunsupprimierten) Patienten nicht ausgeschlossen werden.

Demetriou, Rozga et al., Los Angeles, California, USA, 1993^{6, 18, 85-94}: (HepatAssist 2000; Circe Biomedical, Lexington, MA)

Das System besteht aus einem Hohlfasermembran Modul mit porösen ($d = 0,2 \mu\text{m}$) Cellulose-Acetat Kapillaren. Die innere Gesamtoberfläche beträgt 6000 cm^2 , die äußere Gesamtoberfläche 7000 cm^2 , bei einer Wanddicke der Kapillaren von $62 \mu\text{m}$. Das extrakapillare Volumen beträgt 200 ml und wird mit $5-7 \times 10^9$ porcinen Hepatozyten in Kollagen ummantelten Dextran-Microcarriern gefüllt. Bei den ersten 15 Patienten wurden zunächst frische Hepatozyten verwendet, später kamen kryokonservierte Zellen zum Einsatz. Die Zirkulation erfolgt venös über einen Doppel-Lumen Katheter in der V. femoralis superficialis mit einer Flussrate von $90 - 100 \text{ ml/min}$ zum Plasmaseparator. Das Plasma wird anschließend mit 50 ml/min in den Reaktorkreislauf eingespeist und passiert hier zunächst einen Cellulose beschichteten Aktivkohlefilter. Die Zirkulation im Reaktor erfolgt mit 400 ml/min . Der Stoffaustausch findet hauptsächlich über Diffusion und die hohen Druckgradienten über der Membran statt. Zur Sicherung wird der Druck im System gemessen.

In den Jahren 1993 bis 2001 wurden insgesamt 39 Patienten (FHF = 26, PNF = 3, AOCHF = 10) im Rahmen von Einzelfallberichten bzw. von einer Studie zur klinischen Sicherheit des Systems behandelt. Die einzelnen Behandlungsintervalle betragen jeweils 6 Stunden. Die Spiegel für Ammoniak und totales Bilirubin konnten unter der Therapie signifikant gegenüber den Ausgangswerten gesenkt werden, und es zeigte sich eine deutliche Verbesserung des neurologischen Status, insbesondere bei Patienten mit ALV. Das System erscheint in der Anwendung am Patienten sicher zu sein. Lediglich ein Patient litt während der Therapie unter einem vorübergehenden Blutdruckabfall, der eine Unterbrechung der Therapie erforderte. Unklar bleibt, in wie weit die zusätzliche intensivmedizinische Betreuung die Ergebnisse beeinflusst hat und welchen Stellenwert der vorgeschaltete Aktivkohlefilter hat. Auch scheint die Zellmasse, insbesondere bei einem etwa $10 - 20 \%$ igem Vitalitätsverlust nach Kryokonservierung, eher gering.

Flendrig, Chamuleau et al., Amsterdam, Niederlande, 1997: (AMC-Bioartificial Liver = AMC-BAL)^{9, 26-28}

Das System besteht aus einem zylinderförmigen Hohlfasermembran Bioreaktor und einer vorgeschalteten Plasmazentrifuge. Im Reaktor werden auf einer spiralförmig aufgerollten hydrophilen Polystyrolmatte mindestens 10^{10} porcine Hepatozyten adhärirt. Die Matte hat eine Dicke von 4 mm und eine Gesamtoberfläche von 5610 cm^2 . Zwischen den Lagen der Matte

befinden sich longitudinal ausgerichtete Hohlfaser Kapillaren zur Oxygenierung der Zellen. Die Plasmaseparation erfolgt über eine Plasmazentrifuge mit einem Vollblut Volumenfluss von 100 ml/min und einer resultierenden Plasmafiltrationsrate von 40 – 50 ml/min. Anschließend wird das Plasma longitudinal, mit einer Flussrate von 150 ml/min durch den Reaktor geleitet und kommt hierbei in direkten Kontakt zu den Hepatozyten.

In einer Kontrollstudie zur Sicherheit des Systems wurden 12 Patienten mit hyperakutem bzw. akutem Leberversagen mit dem AMC-BAL behandelt. Alle Patienten zeigten vor der Behandlung eine Enzephalopathie vom Grad III – IV und waren als Transplantations-Kandidaten gelistet. Die Behandlungen dauerten insgesamt zwischen 8 – 35 Stunden, wovon drei Patienten mehrere Behandlungen erhielten. Unter der Therapie zeigten sich zwei leichte, medikamentös regulierbare Hypotonus Episoden. 11 der Patienten wurden erfolgreich transplantiert, von denen jedoch 3 postoperativ verstarben. Ein Patient erholte sich nach zwei Behandlungen mit dem AMC-BAL ohne eine Transplantation. Alle Patienten zeigten eine Besserung des neurologischen Status und die Plasmaspiegel für Ammoniak und totales Bilirubin ließen sich im Mittel um 31 % bzw. 44 % senken.

Patzer et al., Oakdale & Pittsburgh, Pennsylvania, USA, 1999 ^{30, 31}: (Bioartificial Liver Support System = BLSS; Excorp Medical Inc.)

In einer Hohlfasermembran-Kartusche befindet sich im extrakapillären Raum ein Gemisch aus frischen porcinen Hepatozyten und 20% Kollagen. Die Zellmasse beträgt 70 – 100 g. Eine Therapieeinheit dauerte jeweils 12 Stunden, begleitet von einer Vor- und Nachbeobachtungszeit von ebenfalls jeweils 12 Stunden. Während der Therapie wurde Vollblut mit einer Flussrate von 100 – 250 ml/min, abhängig vom hämodynamischen Zustand des Patienten, durch die Kapillaren des Systems gepumpt. Der Stoffaustausch erfolgte hierbei durch Diffusion über die semipermeablen Kapillarmembranen mit einem cut-off von 100 kD. Zur Sicherheit sind in das System Druck- und Flussaufnehmer integriert. In einer Kontrollstudie zur Sicherheit des Systems erhielten 4 Patienten mit ALV (2) bzw. AOCHF (2) ein oder zwei Therapieeinheiten mit dem BLSS. Die Spiegel von Ammoniak und totalem Bilirubin im Plasma fielen im Mittel unter der Therapie um 33% bzw. 6%. Der neurologische Status der Patienten und die Nierenfunktionen zeigten keine eindeutige Beeinflussung durch die Therapie. Ein Patient zeigte zu Beginn der Therapie einen vorübergehenden Hypotonus. Einer der Patienten erhielt eine OLTx, die drei anderen verstarben ohne OLTx. Die Autoren merken selber an, dass die biochemischen Veränderungen nur moderat waren und weitere Patienten nötig sind, um eine eindeutige Aussage über die Sicherheit des Systems zuzulassen.

Morsiani et al., Ferrara, Italien, 2001^{94,95}: (Radial Flow Bioreactor = RFB)

Das System besteht aus einer 6 mm dicken teilweise gewobenen und teilweise nicht gewobenen Polyester Matrix, welche zwischen zwei feingewobenen Polyester Netzen liegt. 200 – 230 g frische porcine Hepatozyten werden in die Zwischenräume der Matrix injiziert. Die äußeren Polyesternetze verhindern mit einem cut-off von 1 µm ein Austreten der Zellen während der Perfusion. Das Modul befindet sich in einem Polycarbonat Zylinder. Das anströmende Plasma diffundiert vom Kern des Zylinders nach Außen und passiert hierbei die zelltragende Matrix. Das System wird bei 37°C betrieben. Die Sauerstoffversorgung der Zellen erfolgt über eine Oxygenierung des Plasmas vor Eintritt in den Zylinder. Die Flussrate zum Plasmaseparator beträgt 80 ml/min. Anschließend wird das Plasma mit 22 ml/min in das Modul eingespeist. Die Flussrate im Reaktor beträgt 1,0 – 1,5 ml/min/g Hepatozyten. In einer Kontrollstudie zur Sicherheit des Systems erhielten 7 Patienten mit FHF aufgrund einer Hepatitis B Infektion (3), PNF (3), bzw. einem posttraumatischen ALV (1) insgesamt 8 Therapieeinheiten. Die Therapieeinheiten dauerten zwischen 6 und 24 Stunden. Alle Patienten befanden sich zu Beginn der Therapie in einem Komastadium Grad III – IV. Bis auf einen Patienten mit PNF erhielten alle innerhalb von 2 – 6 Stunden nach der Therapie eine OLTx. Fünf der sechs transplantierten Patienten überlebten, der Patient mit posttraumatischem ALV verstarb an einem Multiorganversagen. Unter der Therapie zeigte sich eine Verbesserung der Enzephalopathie Grade und eine Absenkung der Spiegel von Ammoniak und totalem Bilirubin im Plasma um 33% bzw. 11%, sowie eine Verbesserung der Transaminase Spiegel und der Prothrombinzeit. Bei zwei Patienten musste die Behandlung aufgrund nicht näher beschriebener äußerer Faktoren abgebrochen werden. Therapiebedingte Komplikationen zeigten sich nicht.

System	Matsumura	Margulis	ELAD (Sussman & Kelly)	HepatAssist (Demetriou & Rozga)	AMC-BAL (Flendrig & Chamuleau)	TECA-HALSS (Xue)	BLSS (Patzner)	MELS (Gerlach)
Zelltyp / ~quelle	Lapin, Kryo-konserviert	Porcin	Humane Zelllinie C3A	Porcin, Kryo-konserviert	Porcin, frisch isoliert	Porcin, frisch isoliert	Porcin, frisch isoliert	Human, frisch isoliert
Zellzahl	10 ¹⁰	4 x 10 ⁷	200 - 400 g	5 - 7 x 10 ⁹	10 ¹⁰	10 - 20 x 10 ⁹	70 - 100 g	Bis 600 g
Cutoff [kD] (Membran)	„Kleine – mittlere“ Moleküle	PVC-Kapseln + Nylon/Aktivkohlefilter	70	0,2 µm Poren	Direkter Zell-Plasma Kontakt	Keine Angabe	100	400
Perfusat	Blut	Blut	Blut	Plasma	Plasma	Plasma	Blut	Plasma
Filtrations-Rate [ml/min] 1.) Blut 2.) Plasma	Keine Angabe	Entfällt	1.) 150 - 200	1.) 90 - 100 2.) 50	1.) 100 2.) 40 - 50	Keine Angabe	1.) 100 - 250 2.) 31	1.) 150 - 300 2.) 31
Flussrate Reaktor [ml/min]	145	90	15 - 200	400	150	Keine Angabe	100 - 250	100 - 200
Indikation / Anzahl Patienten	ALF = 0 PNF = 0 AOC = 1	Therapie = 59 vs. Kontrolle = 67	ALF = 12 : 12 (ELAD vs. kein ELAD)	ALF = 26 PNF = 3 AOC = 10	ALF = 12 PNF = 0 AOC = 0	ALF = 3 PNF = 0 AOC = 3	ALF = 2 PNF = 0 AOC = 2	ALF = 2 PNF = 2 AOC = 4
Behandlungsdauer [h]	4,5 & 5	6	3 - 168	6	Max. 24	Bis 5	12	7 - 74
Outcome	LTX = 0 Ø LTX = 1 † (Ø LTX) = 0	Lebend = 30 vs. 26 † = 37 vs. 41	LTX = 1 : 1 Ø LTX = 7 : 6 † (Ø LTX) = 4:5	LTX = 21 Ø LTX = 2 † (Ø LTX) = 10	LTX = 11 Ø LTX = 1 † (Ø LTX) = 0	Keine Angabe, mind. : Ø LTX = 2	LTX = 1 Ø LTX = 0 † (Ø LTX) = 3	LTX = 6 Ø LTX = 1 † (Ø LTX) = 1
Komplikationen	Keine berichtet	Keine Angabe	1 x Hyperakute Reaktion 1 x DIC	Vereinzelter Hypotonus	2 x kurze Hypotonus Episode	Keine	Vorübergehender Hypotonus	Keine
Steigerung Überlebensrate	Ja / Einzelfall	Nein	Nein	Nur Sicherheitsstudie	Nur Sicherheitsstudie	/	Nur Sicherheitsstudie	Nur Sicherheitsstudie
Verbesserung Neurologie	Ja / Einzelfall	Ja	wahrscheinlich	Ja	Ja	Ja	Nein (Sedierung)	Ja
Beseitigung Ammoniak	Keine Angabe	50%	Zunahme um 8%	18%	44%	Keine Angabe	33%	Keine Angabe
Beseitigung Bilirubin total	Keine Angabe	Keine Angabe	Zunahme um 20%	18%	31%	Keine Angabe	6%	Keine Angabe
PERV Test	Keine Angabe	Keine Angabe	Entfällt	Negativ	Negativ	Keine Angabe	Negativ	Entfällt

Tab. 4: Übersicht über einige bisher am Patienten getestete hybride Leberunterstützungssysteme, in Anlehnung an van de Kerkhove⁹.

1.8 Anforderungen an das LUS-Design

Die meisten hier beschriebenen Systeme sind Hohlfasermembran Systeme, die sich hauptsächlich aufgrund der Art des Stoffaustausches, der Oxygenierung und der Zellart und Zellzahl unterscheiden. Diese Unterschiede können u.a. maßgeblich die extrazelluläre Umgebung beeinflussen, welche wiederum die Aktivität der Hepatozyten beeinflusst. Neben der schnellen Verfügbarkeit zur Therapie lassen sich folgende notwendige Funktionsmerkmale bei der Konstruktion eines hybriden Leberunterstützungssystems aus den bisherigen Ergebnissen ableiten^{9, 96, 97}:

- die Gewährleistung einer sicheren Immunisolierung zwischen Zellen und Plasma
- die Schaffung einer Oberfläche zur Zelladhäsion (und somit Immobilisation der Zellen), da „freie“ Zellen innerhalb kurzer Zeit ihre leberspezifische biochemische Aktivität verlieren⁹⁸⁻¹⁰⁰
- die Schaffung einer leberähnlichen Makroumgebung zur Anregung der Zellen zur Reorganisation einer lebertypischen Mikrostruktur
- ein dezentralisierter Metabolitenan- und ~abfluss mit niedrigen Gradienten
- eine dezentralisierte Sauerstoffzu- und Kohlendioxidabfuhr mit niedrigen Gradienten
- eine ausreichende Flusskapazität für einen suffizienten Stoffaustausch
- die Möglichkeit eines bidirektionalen Stoffaustausches
- eine entsprechende Dimensionierung für eine ausreichende Zellzahl (> 2×10^{10} Zellen bzw. > 200g Zellmasse)
- eine unkomplizierte und gleichmäßige Befüllung des Systems mit Zellen

Diesen Konstruktionsmerkmalen gemeinsam ist, dass sie alle eng mit den Strömungsverhältnissen des Systems in Wechselwirkung stehen. Einerseits lassen sich die Strömungsverhältnisse durch eine Modifikation dieser Merkmale erheblich verändern, andererseits können die Strömungsverhältnisse im System die Makro- und Mikroumgebung der Zellen sowie die Effektivität des Systems maßgeblich beeinflussen.

1.9 Ziel der Arbeit

Das ALV stellt, wie beschrieben, ein schweres Krankheitsbild mit einer hohen Mortalität dar. Die allogene OLTx, als derzeitige Therapie der Wahl, kann nicht jedem Patienten angeboten werden und bedeutet eine massive Einschränkung der Lebensqualität sowie eine deutliche Verkürzung der Lebenserwartung⁵⁹. Bioreaktoren mit Leberzellen sind interessante Alternativen für die Entwicklung von Leberunterstützungssystemen. Bisher entwickelte Kulturmodelle sehen, wie in den Beispielen beschrieben, eine Hepatozytenkultur im Monolayer, als Sandwich-Kultur

mit Kollagen- oder Sinuszellüberlagerung oder eine Kultur in einfachen Hohlfaserkapillarkartuschen vor. Das in unserer Arbeitsgruppe entwickelt dreidimensionale Perfusions-Kulturmodell ist in seiner Konfiguration am Aufbau der Leber orientiert. Es ermöglicht die Co-Kultur von Hepatozyten in ausreichend großer Menge mit Sinusendothelzellen aus der Leber über einen längeren Zeitraum. Hierbei bleibt sowohl die Vitalität als auch die Funktionalität der Zellen erhalten. Ein therapeutischer Einsatz des Systems am Menschen ist möglich¹⁰¹⁻¹⁰³.

Das Ziel dieser Arbeit war der Vergleich von verschiedenen Laufmodi (Perfusion und Diffusion durch ein oder beide Kapillarbündel im Bioreaktor) bei unterschiedlichen Flussraten. Dies soll zum besseren Verständnis der Flüssigkeits- und Massenverteilung im Bioreaktor führen und soweit möglich, sollte eine Empfehlung für eine ideale Einstellung des Laufmodus und der Flussrate im Betrieb erarbeitet werden. Hierfür sollen folgende Hypothesen überprüft werden:

1. Die Flussrate und der Laufmodus beeinflussen die Mischzeit bis zum Erreichen eines festgelegten Durchmischungsgrades.
2. Höhere Flussraten führen zu einer rascheren Durchmischung.
3. Bei gleicher Flussrate führen Perfusion und Cross Flow zu einer rascheren Durchmischung als die beiden Diffusionsmodi.
4. Diffusion durch beide Kapillarbündel zeigt eine raschere Durchmischung als Diffusion durch ein Kapillarbündel.
5. Die Bauweise des Bioreaktors ermöglicht eine effektive Flüssigkeits- und Massenverteilung im System.

Zur Beschreibung der Flüssigkeits- und Massenverteilung sollten Durchmischungsmessungen mit Phenolrot (PSP = Phenolsulfonphthalein) als Marker durchgeführt werden.