

Aus dem
Charité Centrum für operative Medizin
Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie
Direktor: Professor Dr. Peter Neuhaus

Habilitationsschrift

**Leberregeneration und Optimierung der Organfunktion nach
Lebertransplantation und ausgedehnter Leberteileresektion unter besonderer
Berücksichtigung der Hepatitis-C**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. Maximilian Schmeding
geboren am 22.12.1974 in Hamburg

Eingereicht: 01 / 2010

Dekanin: Prof. Dr. med. A. Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Prof. Dr. med. B. Vollmar, Rostock

2. Gutachter: Prof. Dr. med. H. Schlitt, Regensburg

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Problemstellung	03
2. Eigene Arbeiten	04
2.1 Erythropoietin promotes hepatic regeneration after extended liver resection.	05
2.2. Erythropoietin reduces ischemia-reperfusion injury after liver transplantation in rats	06
2.3 Erythropoietin reduces ischemia-reperfusion injury and improves survival after transplantation of fatty livers in rats	07
2.4 Hepatitis C recurrence and fibrosis progression are not increased after living donor liver transplantation: a single-center study of 289 patients	08
2.5 C4d in acute rejection after liver transplantation--a valuable tool in differential diagnosis to hepatitis C recurrence	09
3. Diskussion	10
4. Zusammenfassung	17
5. Literaturangaben	19
6. Danksagung	24
7. Erklärung an Eides statt	25

1. Einleitung

Die hepato-biliäre Chirurgie hat in den vergangenen Jahren bedeutende Fortschritte erzielen können.

Durch verbesserte chirurgische und intensivmedizinische Behandlungsmethoden sind heute großvolumige Leberteilresektionen möglich geworden, mit der Metastasen-Chirurgie ist hier im vergangenen Jahrzehnt ein völlig neues Indikationsspektrum hinzugekommen.

Das Verfahren der Lebertransplantation ist seit Jahren etabliert, 5-Jahres Überlebensraten von ca. 85% sind hier heute Standard. Nichtsdestoweniger besteht weltweit weiterhin ein eklatantes Missverhältnis zwischen dem Angebot an geeigneten Spenderorganen und der Anzahl der Empfänger auf der Warteliste.

Das ausgeprägte Gewebstrauma stellt sowohl bei der partiellen Hepatektomie als auch bei der Lebertransplantation die limitierende Komponente dar.

Eine verbesserte Gewebsvorbereitung („Präkonditionierung“) bzw. Nachbehandlung kann das Ausmaß des Traumas erheblich reduzieren und somit die perioperative Mortalität und Morbidität günstig beeinflussen. Vorgeschädigte Organe, z.B. verfettete oder fibrotische Lebern könnten so möglicherweise einer chirurgischen Therapie zugänglich gemacht werden bzw. als Transplantationsorgane zur Verfügung stehen.

Eine besondere Herausforderung auf dem Gebiet der Lebertransplantation stellt die Hepatitis-C als zugrunde liegende Erkrankung dar. Die virale Rezidiv-Rate nach Transplantation beträgt nahezu 100 % und führt häufig zu einer signifikanten Verschlechterung der Transplantatfunktion und Ausbildung einer Rezidiv-Zirrhose in den ersten Jahren nach Lebertransplantation. Eine effektive Behandlung und Rezidiv-Prophylaxe der HCV gelingt nur in 30-40 % der Fälle. Ein entscheidendes Kriterium hierbei ist die frühe und verlässliche Diagnosestellung sowie die schnellstmögliche Einleitung einer antiviralen Therapie.

Erythropoietin (Epo) hat sich in der jüngsten Vergangenheit als äußerst wirkungsvoller Gewebsschutzfaktor, insbesondere bei ischämischen Läsionen unterschiedlichster Gewebe wie Herzmuskelzellen, neuronale Zellen oder auch Nierenzellen erwiesen [1-3]. Erythropoietin gehört zur Gruppe der hämatologischen Wachstumsfaktoren. In der Niere endogen synthetisiert stimuliert es im Zielorgan Knochenmark die Vorläuferzellen der erythroiden Reihe und führt zu einem Anstieg von Retikulozyten und Erythrozyten. Die Halbwertszeit von Erythropoietin beträgt circa 6 bis 8 Stunden, bei exogen zugeführtem Erythropoietin ist sie von der Applikationsform abhängig.

Im Rahmen der vorliegenden Habilitationsarbeit wurden die potentiell protektiven Effekte von Erythropoietin unter Bedingungen der Leberteilresektion, der Lebertransplantation sowie der Transplantation sogenannter „marginaler Organe“ (Fettlebern) experimentell

untersucht. Die klinische Arbeit fokussiert sich auf die Leberregeneration nach Split-Leber Transplantation unter besonderer Berücksichtigung der Hepatitis-C als Grunderkrankung sowie auf die prognostisch wichtige Differentialdiagnose des akuten Hepatitis-C Rezidivs zur akuten Rejektion.

2. Eigene Arbeiten

Die Leber nimmt unter den parenchymatösen Organen des Körpers eine Sonderstellung ein, da sie über eine ausgeprägte Regenerationsfähigkeit verfügt. Diese ist jedoch abhängig vom qualitativen Zustand des Organes: So ist bei gesunden Lebern eine Regeneration nach bis zu 80%-iger Entfernung des Gesamtlebervolumens möglich, bei fibrotisch veränderten Organen ist diese Regenerationskapazität jedoch dramatisch reduziert, das zirrhotische Organ hat diese Fähigkeit vollständig verloren, hier können bereits kleinere Lebertraumata zum kompletten Organversagen mit Todesfolge führen.

Die hepatische Regenerationskapazität hat man sich in der Leberchirurgie zunutze gemacht und kann heute gross-volumige Leberteileresektionen mit guten Erfolgen durchführen. Neben zentralen Gallengangskarzinomen hat hier insbesondere die Metastasen-Chirurgie in den letzten Jahren zu einer deutlichen Erweiterung des Patientenspektrums geführt. Trotz verbesserter operativer und postoperativ-intensivmedizinischer Versorgung tritt in einigen Fällen weiterhin eine postoperative Leberinsuffizienz auf, die nicht therapeutisch aufgefangen werden kann und somit zum Tode des operierten Patienten führt.

Die Verbesserung der hepatischen Regenerationskapazität stellt somit einen Ansatzpunkt für innovative Therapieverfahren dar. So kann beispielsweise durch die systemische Gabe von Steroiden unmittelbar vor der Leberresektion bzw. der temporären Leberischämie (Pringle-Manöver) während der Dissektionsphase eine signifikante Reduktion der Gewebsschädigung erreicht werden[4]. Auch die sogenannte „ischämische Präkonditionierung“, d.h. das intermittierende Ausklemmen der hepatischen Blutzufuhr jeweils gefolgt von zwischenzeitlichen Reperfusionphasen, kann zu einer Reduktion der warmen ischämischen Leberschädigung führen[4-6].

Die direkte Stimulation der hepatischen Regeneration jedoch ist bis dato nur unzureichend gelungen.

Verschiedene Autoren konnten in der jüngsten Vergangenheit zeigen, dass das endogene, synthetisch herstellbare Hormon Erythropoietin signifikant zur Verbesserung der Gewebsregeneration in unterschiedlichen Gewebstypen beitragen kann[1-3]. So konnte beispielsweise eine deutlich verbesserte Regeneration der zerebralen Leistungsfähigkeit nach Apoplex durch Erythropoietin-Behandlung aufgezeigt werden[7-14]. Ähnliche Effekte zeigten sich für die Regenerationsleistung von Cardiomyozyten nach Myokardinfarkt[1, 2, 15, 16]. In unserer Arbeitsgruppe konnten wir im Rattenmodell bereits eine signifikante Verringerung des Ischämie-Reperfusionsschadens im Rahmen der warmen Leberischämie

durch Erythropoietin nachweisen [17-19]. Basierend auf diesen Erkenntnissen wurde in der hier unter Publikation #1 aufgeführten Arbeit der Einfluss von Erythropoietin-Behandlung auf die Regenerationskapazität der Leber nach ausgedehnter Leberteilektomie im Rattenmodell untersucht.

PUBLIKATION #1:

Erythropoietin promotes hepatic regeneration after extended liver resection in rats.

Schmeding M, Boas-Knoop S, Lippert S, Ruehl M, Somasundaram R, Dagdelen T, Neuhaus P, Neumann UP. Journal of Gastroenterology and Hepatology 2008 Jul;23:1125-31

Ähnliche Probleme wie nach der ausgedehnten Leberteilresektion treten mitunter auch nach der Lebertransplantation auf. Die Ursache der postoperativen Leberinsuffizienz ist hier meist multifaktoriell: An erster Stelle ist die Organqualität des Spenderorganes von entscheidender Bedeutung. Hat das Spenderorgan eine signifikante Vorschädigung erfahren, sei es bereits zu Lebzeiten des Spenders (z.B. Steatosis, Fibrose) oder aber während der Konservierungsphase (z.B. verlängerte Ischämiezeit), so ist das Risiko einer initialen Organ-Nichtfunktion nach Transplantation deutlich erhöht. Auch der Zustand des Transplantat-Empfängers beeinflusst jedoch die postoperative Transplantatfunktion: Befindet sich der Empfänger vor der Transplantation in einem sehr kritischem Zustand, so droht bei der Kombination aus schlechtem Empfänger-Status kombiniert mit Kreislaufdepression während der operativen Prozedur und Ischämie-geschädigtem Transplantat ebenfalls ein Transplantatversagen.

Die Präkonditionierung sowohl des ggf. kritischen Empfängers als auch des Transplantates stellt somit einen möglichen Ansatzpunkt für die Verbesserung der unmittelbar postoperativen Transplantatfunktion dar. Eine Vielzahl potentiell Gewebs-protektiver Substanzen ist im Modell der Kleintier-Lebertransplantation hinsichtlich dieser Problematik untersucht worden. Trotz zum Teil vielversprechender Ergebnisse im Maus- oder Rattenversuch ist die Übertragung in die klinische Praxis bis dato jedoch meist gescheitert[20-30]. Einige Ergebnisse, so z.B. die Erkenntnis, dass Glutathion über seine antioxidative Potenz zu einer Verringerung des Ischämie-Reperfusionsschadens beitragen kann, haben Eingang in die Herstellung von Perfusions- und Konservierungslösungen gefunden[31].

Basierend auf den vorausgegangenen Erfahrungen mit Erythropoietin und seinem günstigen Einfluss auf die Leberregeneration und den verminderten Ischämieschaden wurde die hier unter Publikation #2 aufgeführte Studie durchgeführt. Ein wichtiges Kriterium bei der Bewertung der Substanz Erythropoietin als Gewebsprotector und Regenerationsstimulator stellt das Faktum dar, dass rekombinantes Erythropoietin ein seit Jahren im humanen Organismus eingesetztes Medikament ist und sein Nebenwirkungsspektrum ausreichend bekannt und sehr limitiert ist. Eine Übertragung vom Kleintiermodell in die klinische Praxis dürfte somit ggf. deutlich vereinfacht werden.

PUBLIKATION #2:

Erythropoietin reduces ischemia-reperfusion injury after liver transplantation in rats.

Schmeding M., Hunold G, Ariyakhagorn V, Rademacher S, Boas-Knoop S, Lippert S, Neuhaus P, Neumann UP. Transplant International 2009 Jul;22(7):738-46.

Weltweit übersteigt der Bedarf an Transplantaten bei weitem das Angebot adäquater Organe. Dieses Faktum führt mit Blick auf die Lebertransplantation zu einer Sterberate von ca. 40 % auf der Warteliste. Hieraus resultierte in den vergangenen 10-15 Jahren eine zunehmende Akzeptanz sogenannter „marginaler Organe“, d.h. Organe, die als qualitativ minderwertig eingestuft werden müssen. Faktoren für diese Herabstufung können zum Beispiel sein: hohes Spenderalter, lange Ischämiezeit des Organs, höhergradige Steatosis...

Mit der zunehmenden Akzeptanz und Transplantation dieser „marginalen Organe“ steigt auch die peri- und postoperative Komplikationsrate sowie die Quote initialer Nichtfunktionen [32, 33].

In Anbetracht der positiven Ergebnisse, die die Erythropoietin-Behandlung in Bezug auf die Regeneration und postoperative Organfunktion liefern konnte, lag es nahe, den potentiellen Einfluss von Erythropoietin auf die Funktion „marginaler Organe“ nach Lebertransplantation zu untersuchen. Die hier unter #3 vorgestellte Untersuchung evaluiert die Wertigkeit von Erythropoietin in einem Rattenmodell der Transplantation massiv verfetteter Lebern. Die Leberverfettung (Steatosis) stellt einen großen Anteil der klinischen Ursachen für die Klassifikation eines Spenderorganes als „marginal“ dar.

PUBLIKATION #3:

Erythropoietin reduces ischemia-reperfusion injury and improves survival after transplantation of fatty livers in rats

Maximilian Schmeding, Sebastian Rademacher, Sabine Boas-Knoop, Christoph Roecken, Uwe Lendeckel, Peter Neuhaus, Ulf P. Neumann Transplantation 2010 Jan 27;89(2):161-8

Die Leberregeneration unterliegt verschiedenartigen Regulationsmechanismen, die durch zahlreiche Einflussfaktoren modifiziert werden können [34, 35]. So stellt beispielsweise die Hepatitis-C als Grunderkrankung einer zur Lebertransplantation führenden Zirrhose auch nach der Transplantation ein gravierendes Problem dar. Die virale Infektion des Gesamtorganismus kann durch die Transplantation nicht eliminiert werden, mit der zirrhotischen Leber wird lediglich der „Viruspool“ in Form der Virus-infizierten Hepatozyten entfernt, es verbleibt aber eine systemische Infektion mit einer deutlich reduzierten Hepatitis-C Viruslast. Eine rekurrente Infektion der transplantierten Leber mit dem hepatotropen Hepatitis-C Virus ist somit unvermeidbar. Unter der erforderlichen Immunsuppression wird die virale Replikation zudem deutlich begünstigt, so dass es zu schweren HCV-Rezidiven nach Lebertransplantation mit fulminantem Verlauf kommen kann.

Der potenteste Stimulus der Leberregeneration ist die Teilentfernung von Lebergewebe, in deren Folge das verbleibende Parenchym kompensatorisch hypertrophiert und eine ausgeprägten Hyperplasie induziert wird. Dieser regenerative Reiz wirkt sich allerdings nicht nur auf das verbliebene intakte Lebergewebe aus, sondern auch auf darin möglicherweise enthaltene Fremdzellen, z.B. okkulte Metastasen. So kann es beispielsweise nach Entfernung colorektaler Lebermetastasen durch eine (erweiterte) Hemihepatektomie nicht nur zu einer postoperativen Hypertrophie des Restlebergewebes kommen, sondern auch zu einem explosionsartigen Wachstum okkult, bis dato mikroskopisch kleiner Metastasen im verbliebenen Leberanteil kommen.

Die Splitleber-Transplantation, häufig als Lebendspende-Transplantation durchgeführt, nimmt vor diesem Hintergrund eine besondere Rolle ein. Durch die unmittelbar vor der Transplantation erfolgte Splitting-Prozedur entsteht ein erheblicher Regenerationsreiz auf das transplantierte Lebergewebe, der zu einer vermehrten Gewebhyperplasie führt. Besondere Brisanz gewinnt dieser zunächst positive Aspekt im Falle einer bestehenden Hepatitis-C Infektion: Hier kann sich der gesteigerte Regenerationsreiz verstärkend auf die HCV -Replikation auswirken und somit eine drastischer verlaufende HCV-Reinfektion provozieren als beim full-size Transplantat. Aggravierend verfügt der Patient unmittelbar nach der LTX nur über ein deutlich verkleinertes Lebervolumen, so dass die funktionelle Reservekapazität der Leber hier schneller erschöpft sein könnte. In der Literatur wird daher die Splitleber-Transplantation beim Hepatitis-C Patienten sehr kontrovers diskutiert[36, 37].

Die hier unter Publikation #4 vorgelegte Arbeit untersucht unter klinischen Bedingungen den Einfluss der Splitleber-Transplantation (= reduced size Transplantation) und des hieraus resultierenden Regenerations-Stimulus auf den kurz- und langfristigen Verlauf der Hepatitis-C Rezidiv.

PUBLIKATION #4: Hepatitis C recurrence and fibrosis progression are not increased after living donor liver transplantation: a single-center study of 289 patients.

Schmeding M, Neumann UP, Puhl G, Bahra M, Neuhaus R, Neuhaus P.

Liver Transplantation 2007 May;13(5):687-92

Die kurz- und langfristigen Ergebnisse der Lebertransplantation haben sich in den vergangenen zwei Jahrzehnten erheblich verbessert, vor allem bedingt durch eine effektivere Immunsuppression sowie eine qualitativ hochwertige intensivmedizinische Therapie. 5-Jahres-Überlebensraten von > 80 % sind in den meisten Zentren heute die Regel[38-40], sämtliche Statistiken weisen jedoch für Patienten mit einer Hepatitis-C als Grunderkrankung einen unterdurchschnittlichen Verlauf aus[41-44]. Die zugrunde liegende Ursache ist in der HCV-Reinfektion zu finden, welche es möglichst früh zu erkennen und ggf. zu therapieren gilt. Die HCV-Reinfektion äußert sich klinisch meist in einem Anstieg der Transaminasen sowie einer serologisch messbaren Virus-Last. Bei Vorliegen dieser Kriterien sollte eine Leberbiopsie mit histologischer Auswertung erfolgen, die bis dato den Goldstandard der Diagnose „Hepatitis-C Reinfektion“ darstellt. Problematisch hierbei ist die exakte und verlässliche Abgrenzung zur Diagnose der akuten zellulären Rejektion, die in der relevanten frühen Phase nach LTX (innerhalb der ersten 6 Wochen) ebenfalls relativ häufig auftritt. Sowohl im klinischen wie auch im histologischen Bild bieten diese zwei unterschiedlichen Pathologien mitunter nahezu identische Manifestationen[45]. Ein valider differentialdiagnostischer Marker kann hier zu einer erheblichen Prognose-Verbesserung beitragen, da insbesondere eine falsch als Rejektion behandelte HCV-Reinfektion gravierende Folgen nach sich ziehen kann: Durch die bei einer akuten Rejektion standardmäßig verabreichten Steroide wird die Hepatitis-C Virus-Replikation erheblich begünstigt und somit die schwere Rezidiv-Infektion mit konsekutiver Fibrosebildung und Verschlechterung der Transplantatfunktion gebahnt. Das Komplement-Spaltprodukt C4d ist ein kovalent an die Endothelzellen der Portalfelder bindendes Protein, das sich immunhistochemisch nachweisen lässt. Die Expression dieses Proteins ist im Falle einer humoralen Rejektion deutlich erhöht, der Nachweis von C4d wird auf dem Gebiet der Nieren-Transplantation als Marker einer solchen als Routine-Verfahren eingesetzt. Basierend auf der Annahme, dass auch im Falle einer Rejektion nach Lebertransplantation humorale Komponenten eine Rolle spielen, untersucht die hier unter Publikation #5 aufgeführte Arbeit die Qualität eines histologischen C4d Nachweises als differentialdiagnostischer Marker zwischen Hepatitis-C Reinfektion und akuter Rejektion.

Publikation #5:

C4d in acute rejection after liver transplantation--a valuable tool in differential diagnosis to hepatitis C recurrence.

Schmeding M, Dankof A, Krenn V, Krukemeyer MG, Koch M, Spinelli A, Langrehr JM, Neumann UP, Neuhaus P. American Journal of Transplantation 2006 Mar;6(3):523-30

3. Diskussion

In den hier vorgelegten Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die hepatische Regeneration im Rattenmodell durch eine Erythropoietin Behandlung entscheidend verbessert werden kann. Dieser Effekt konnte sowohl für die postoperative Leberregeneration nach ausgedehnter Leberteilektomie als auch für die Lebertransplantation aufgezeigt werden, wobei hier eine signifikante Reduktion des Ischämie-Reperfusionsschadens zu verzeichnen ist.

Im Falle der ausgedehnten chirurgischen Leberteilektomie, welche durch die Ausweitung der Indikationsstellung bei vorliegenden Lebermetastasen unterschiedlicher Primarien in den letzten Jahren deutliche Zuwachsraten zu verzeichnen hat, sind bis dato verschiedene Strategien zur Vermeidung der postoperativen Leberinsuffizienz in Folge eines unzureichenden Restparenchym-Volumens entwickelt worden. So wird heute häufig eine portalvenöse oder auch arterielle Embolisation des zu resezierenden Leberanteiles durchgeführt, um so eine Hypertrophie des perspektivisch verbleibenden Leberteils zu induzieren. Nach einer entsprechenden 3-6 wöchigen „Hypertrophie-Phase“ erfolgt dann die ausgedehnte Resektion. Insbesondere bei unzureichender Hypertrophie und/oder vorgeschädigtem Lebergewebe (z.B. durch zuvor erfolgte Chemotherapie) ist das Volumen der verbleibenden Restleber jedoch oft kritisch. Eine peri-operative Konditionierung der Restleber mittels eines regenerationsfördernden Stimulus könnte also zu einer Verbesserung der Ergebnisse nach entsprechend ausgedehnter Leberchirurgie beitragen.

In unserer Arbeitsgruppe konnten wir für die warme Leberischämie eine signifikante Reduktion des Ischämie-Reperfusionsschadens durch Erythropoietin Behandlung aufzeigen [17-19], verschiedene Autoren beschreiben ähnliche Effekte in anderen Organsystemen [1-3,8-9].

An dieser Stelle sei der Pathomechanismus des Ischämie-Reperfusionsschadens kurz skizziert, da dieser eine grundlegende Stellung in der Organtransplantation einnimmt: Die Ischämiephase ist u.a. gekennzeichnet durch eine Störung der mitochondrialen Atmungsabläufe[46]. Es wird eine intrazelluläre ATP-Depletierung beobachtet, die zu einer massiven Beeinträchtigung aller ATP-abhängigen Stoffwechsel- und Transportprozesse führt[46, 47]. So kann während längerer Ischämiephasen die intrazelluläre Ionen-Homöostase, welche durch ATP-abhängige Ionen-Transportvorgänge reguliert wird, nicht aufrechterhalten werden. Die zytosolischen Natrium-, Kalzium- und Wasserstoff-Konzentrationen steigen, wobei der Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration maßgeblich für die Entstehung des Zellödems verantwortlich ist. Es konnte gezeigt werden, dass insbesondere Hepatozyten durch warme (37 °C) Ischämie geschädigt werden. Dies ist vermutlich nicht ausschließlich Folge einer ATP Depletierung[48], sondern könnte womöglich auch durch die verstärkte Aktivierung nicht lysosomaler Proteasen erfolgen. So könnten z.B. sogenannte Calpaine (Kalzium-verbrauchende Zystein-Proteasen) eine wichtige Rolle in ischämischen Hepatozyten spielen: Calpaine scheinen Zytoskelett-Proteine wie Spectrin zu schädigen, was in der Folge zur Zellnekrose führen kann[49].

Reperfusionsschäden verstärken die Zellaktivierung und Zellschädigung, die bereits in der Ischämiephase induziert wurde. Reperfusionsschäden werden durch ein komplexes Netzwerk hepatischer und extrahepatischer Mechanismen verursacht, wobei vor allem Kupffer-Zellen und deren Aktivierung in der frühen Phase nach Reperfusion eine wichtige Rolle spielen[20, 50-52]. In der späten Reperusionsphase sind vor allem neutrophile Granulozyten an der weiteren Ausbildung von Gewebsschäden beteiligt[53-56].

Jaeschke et al. [53-55] konnten anhand der Bestimmung von Glutathion (GSH) und seiner oxidierten Form (GSSG) feststellen, dass die Plasma GSSG-Konzentration während der Reperusionsphase der Rattenleber signifikant zunahm und dabei die intrazellulären GSSG-Gehalte annähernd unverändert blieben. Seine Ergebnisse unterstreichen eindrucksvoll, daß die Oxidation von Plasma-GSH zu GSSG hauptsächlich durch eine extrazelluläre Elimination von Sauerstoff-Radikalen (ROS) erfolgt, die während der Reperfusion v.a. in KC gebildet und freigesetzt werden. Bilzer et al. [21] konnte ebenfalls zeigen, dass aktivierte KC insbesondere in der frühen Reperusionsphase die Hauptquelle für die ROS-Bildung sind. Ursachen, die zu einer verstärkten Aktivierung von KC führen können, sind neben Hypoxiephasen, v.a. bakterielle Endotoxine (LPS) und die Komplementaktivierung[57-59]. Unter pathophysiologischen Voraussetzungen, wie dies während der Reperusionsphase der Leber der Fall ist, führt die große Freisetzung von ROS zur ausgeprägten Gewebsschädigung: So führt die KC-Aktivierung und konsekutive ROS-Freisetzung zu hepatischen Mikrozirkulationsstörungen[60].

Zum einen spielt das „no-reflow-Phänomen“ eine Rolle, womit ein initiales Versagen der nutritiven Perfusion der mikrovaskulären Strombahn nach Freigabe der Organdurchblutung gemeint ist und zumindest zum Teil durch Verstopfungen der Gefäßbahn (Sinusoide) durch Thrombozyten und Leukozyten verursacht wird [61]; zum anderen greift das sog. „reflow-paradox“, bei dem trotz einer sinusoidalen Perfusion sekundäre Mikrozirkulationsstörungen im weiteren Verlauf zu beobachten sind. Verantwortlich hierfür scheint die anhaltende Freisetzung proinflammatorischer Zytokine (TNF- α , IL-1) und ROS aus KC und PMN zu sein[62]. Zusätzlich scheinen ROS auch über Protein-Kinasen die sinusoidale Perfusion zu beeinträchtigen[21, 63, 64].

Während der Reperusionsphase kommt es zu Apoptose-Prozesse an Sinusendothelzellen und Hepatozyten [65], ursächlich hierbei sind Sauerstoffradikale (ROS), TNF- α , erhöhte zytosolische Calcium-Konzentrationen und die Aktivierung von Calpain-Proteasen [66, 67]. Zusammenfassend wird der Ischämie-Reperfusionsschaden also im Wesentlichen durch aktivierte Kupfferzellen und Leukozyten, Sauerstoffradikale sowie durch Mikrozirkulationsstörungen verursacht. Das Ausmaß der Schädigung korreliert hierbei direkt mit der Dauer der Ischämie [68, 69].

Erythropoietin hat sich als potenter Antagonist des Ischämie-Reperfusionsschadens ausgezeichnet: Abdelrahman et al. konnten eine deutliche Reduktion der myokardialen Schädigung nach iatrogen induziertem Myokardinfarkt im Tiermodell nachweisen. Die Arbeiten von Parsa et al und Bullard et al. unterstreichen diese Ergebnisse in vitro und in

vivo[1]. Mittlerweile konnten diese Effekte auch im klinischen Setting bestätigt werden [2, 70]. Identische Ergebnisse zeigen sich für die zerebrale Ischämie [71, 72]. Hier gelang es Kretz et al. aufzuzeigen, dass Erythropoietin nicht nur die ischämische Schädigung nach zerebralem Apoplex limitiert, sondern auch die Gewebe-Regeneration entscheidend positiv beeinflusst [73]. Die ersten klinischen Studien zeigten ermutigende Ergebnisse: Erythropoietin, rasch nach einem solchen Infarkt verabreicht, ist gut verträglich und reduziert deutlich die neurologischen Ausfälle sowie die Größe des vom Infarkt geschädigten Hirngewebes [74-77].

Nach dem erfolgreichen Nachweis der Reduktion des hepatischen Ischämieschadens untersuchten wir nun den potentiellen Effekt von Erythropoietin auf die hepatische Regeneration.

Der komplexe Prozess der Leberregeneration umfasst die Aktivierung multipler Signalkaskaden, die u.a. über die Zytokine Hepatocyte-growth-factor (HGF), Vascular-endothelial-growth-factor (VEGF), Signal-transducing-activator (STAT) sowie über Akt und Bcl-x basierte Mechanismen getriggert werden [78-80]. Transforming-growth-factor- β (TGF- β) wird als ein potenter Gegenregulator diskutiert [81].

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde den Versuchstieren Erythropoietin auf zwei unterschiedlichen Applikationswegen zugeführt. Die einmalige Kumulativdosis von 4.000 IU/kg Erythropoietin als intraportalvenöse Applikation erwies sich hierbei im Vergleich zur subcutanen Gabe mittels dreier Einzeldosen als vergleichbar effektiv. Wir konnten feststellen, dass die mit Erythropoietin behandelten Tiere einen deutlich gesteigerten Mitose-Index in der frühen postoperativen Phase aufwiesen, Ki-67 und PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) als Marker der zellulären Proliferation zeigten sich bei den Erythropoietin-behandelten Tieren deutlich erhöht. Diese Ergebnisse spiegelten sich im Überleben einer Studien-Subpopulation wieder: Hier wurden insgesamt 20 Ratten einer 90 %-igen Leberteilesektion unterzogen, jeweils 10 Tiere mit bzw. ohne Erythropoietin Behandlung. Aus der Kontrollgruppe überlebte kein einziges Tier die ersten 24 Stunden postoperativ, von den mit Erythropoietin behandelten Ratten hingegen überlebten 4 von 10 die gesamte Nachbeobachtungszeit von 10 Tagen postoperativ.

Basierend auf den positiven Ergebnissen aus dem Modell der Leberteilesektion sowie vorausgegangenen Arbeiten zur Leberischämie war es naheliegend die potentiellen Effekte einer Erythropoietin Behandlung im Rahmen eines Lebertransplantations-Modells zu untersuchen. Zahlreiche Substanzen sind in den vergangenen Jahren hinsichtlich ihrer Wertigkeit zur Reduktion des Ischämie-Reperfusionsschadens und Verbesserung der postoperativen Transplantatfunktion untersucht worden [31, 82-86]. Hier sind zum Teil beeindruckende Ergebnisse im Kleintiermodell erzielt worden, die Übertragung dieser Ergebnisse in den Großtierversuch ist jedoch nur sehr selten gelungen, den Weg in die humane Anwendung oder gar klinische Praxis hat kaum eine dieser Substanzen gefunden. Wir konnten zeigen, dass die Erythropoietin-Behandlung die Apoptose- und Nekrose-Rate nach hepatischer Ischämie im Rattenmodell signifikant senkt [17], ein Effekt, der maßgeblich

über die Janus-Kinase-2 (JAK-2) vermittelt wird und eine Akt-abhängige intrazelluläre Signalkaskade induziert, die wiederum die Synthese zell-protektiver Signal-Proteine wie STAT-3 hoch reguliert und somit eine anti-apoptotische Wirkung induziert [87-90].

Das durchgeführte Lebertransplantationsmodell in der Ratte untersucht den Einfluss von Erythropoietin auf die postoperative Organfunktion mit besonderem Fokus auf den Ischämie-Reperfusionsschaden sowie die hepatische Regenerationskapazität. In einem dynamischen Modell werden die Leberschädigung und die Gewebeveränderungen zu verschiedenen früh und spät postoperativen Zeitpunkten untersucht. Basierend auf den vorausgegangenen Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe wurde die intraportalvenöse Applikationsform von Erythropoietin als die effektivere Darreichungsform gewählt.

Die Ergebnisse zeigen eine deutliche Reduktion der Apoptose- und Nekrose-Rate bei den mit Erythropoietin behandelten Tieren vor allem in der früh postoperativen Phase innerhalb der ersten Stunden. Die Hypoxyprobe-Messung, eine innovative Methode zum Nachweis hypoxischer Zellen, zeigte im Vergleich zu ca. 30 % hypoxischen Leberzellen in der Kontrollgruppe lediglich Raten von ca. 5 % bei den meisten der Erythropoietin-behandelten Ratten. Erstaunlicherweise spiegeln sich diese in der Histologie sehr eindrücklichen Ergebnisse im Niveau der Transaminasen nur partiell wieder. Hier erreichen die Unterschiede lediglich zu zwei Messungszeitpunkten Signifikanz. Eine mögliche Erklärung ist hier in der relativ großen Varianz der Enzymwerte zu suchen, so dass bei der vorliegenden Gruppengröße keine ausreichende Signifikanz resultiert.

Die Ausprägung von Interleukin-6 (IL-6 mRNA in der RT-PCR) als sowohl Ischämie-bedingt reguliertes Zytokin als auch regenerativer Stimulus zeigte keine Unterschiede zwischen Erythropoietin-behandelten Tieren und der Kontrollgruppe, der exakte Hintergrund bleibt hier unklar. Allerdings wird die Rolle von Interleukin-6 als in Ischämie- und Regenerationsprozesse involviertes Zytokin kontrovers diskutiert [24, 91].

Weitere z.T. etablierte Verfahren zur Verbesserung der postischämischen Transplantatfunktion wie die peri-operative Applikation von Steroiden [4] oder die Optimierung der Organperfusion mittels weiter entwickelter Perfusionslösungen bzw. verbesserter Perfusionstechnik [92, 93](Maschine) in Kombination mit einer Erythropoietin Behandlung könnten den ischämischen Gesamtschaden weiter verringern und die Transplantat-Regeneration befördern.

Aus den im Lebertransplantations-Modell erhobenen Daten leitet sich die folgende Studie zur Transplantation fettiger Lebern ab. Aufgrund des bereits beschriebenen klinischen Mangels an adäquaten Spenderorganen hat sich in den vergangenen Jahren die Akzeptanz suboptimaler Organe als für die Transplantation geeignet deutlich verstärkt. Mit der zunehmenden weltweiten Etablierung der Lebertransplantation als akzeptiertes Routine-Verfahren steigen auch die Zahlen der potentiellen Organempfänger auf den Wartelisten. Bei gleichbleibender Spenderzahl führt dies zu einem zunehmenden Missverhältnis zwischen Organverfügbarkeit und -bedarf und somit zu steigenden Sterberaten auf den Wartelisten.

Die Fachgesellschaften haben in der jüngeren Vergangenheit versucht, auf dieses Phänomen zu reagieren, so zum Beispiel mit einer Veränderung des Wartelisten-Managements und vermehrten Kampagnen zur Spendebereitschaft in der Bevölkerung; es bleibt jedoch die Notwendigkeit einer sogenannten „Erweiterung des Spender-Pools“, d.h. neue Möglichkeiten der Organbereitstellung müssen evaluiert werden. Neben der mittlerweile an vielen Zentren etablierten Leberlebendspende ist dies die zunehmende Akzeptanz von Organen minderer Qualität, die in früheren Jahren als „nicht transplantabel“ abgelehnt worden wären. Gründe für eine solche qualitative „Minderwertigkeit“ („marginal organ“) können zum Beispiel ein hohes Spenderalter, eine bekannte Virushepatitis des Spenders, eine ausgeprägte Leberverfettung oder ein sehr langer Intensivstations-Aufenthalt des Spenders sein.

Die zunehmende Akzeptanz solcher „marginaler Organe“ zieht zwangsläufig eine negative Beeinträchtigung der Ergebnisse in der Gesamtstatistik der klinischen Lebertransplantation nach sich [32, 33, 94]. Aus diesem Grunde liegt es nahe, nach Wegen einer potentiellen Konditionierung dieser „marginalen Organe“ zu suchen, um die postoperative Funktion dieser Transplantate zu optimieren [95-98]. Auf der Grundlage der vorausgegangenen Ergebnisse erscheint Erythropoietin hier als eine potentiell geeignete Substanz.

Zunächst etablierten wir ein Modell zur Induktion sogenannter „marginaler Organe“: Mittels einer cholin-freien Spezialdiät wurde bei den Versuchsratten eine mindestens 50 %-ige Fettleber induziert. In Vorversuchen wurde hier ein verlässlicher Zeitpunkt bestimmt, zu dem definitiv eine solche mindestens 50 %-ige Steatosis vorlag. Es erfolgte dann die Transplantation dieser verfetteten Organe, wobei jeweils eine Studiengruppe mit bzw. ohne Erythropoietin behandelt wurde. Bei den Ergebnissen zeigt sich im Hinblick auf das postoperative Überleben der Tiere bereits, dass die Transplantation derart „marginaler“ Lebern eine ungleich größere Belastung für die Empfänger-Tiere darstellt als die Transplantation gesunder Organe. Aus der mit Erythropoietin behandelten Studiengruppe starben 13 % der Tiere vor dem vorgesehenen Tötungszeitpunkt, aus der Kontrollgruppe überlebten 35 % der Ratten die unmittelbaren Folgen der Transplantation nicht. Hier zeigt sich bereits eine signifikante Verbesserung des Überlebens durch Erythropoietin Behandlung. Ähnlich wie in der vorausgegangenen Untersuchung der Transplantation nicht-fettiger Lebern zeigte sich hier eine deutliche Verringerung der Anzahl hypoxischer Zellen sowie der Apoptose-Rate bei den mit Erythropoietin behandelten Ratten. Interessanterweise stellte sich die Nekrose-Rate in der früh postoperativen Phase in der Erythropoietin-Gruppe zunächst erhöht dar, zu den späteren Messungszeitpunkten überwogen dann die Nekrosen in der Kontrollgruppe. Eine Verringerung der traumatischen Schädigung im Vergleich zu den Kontrolltieren lässt sich auch an der niedrigeren Tumor-necrosis-factor-alpha (TNF- α) mRNA Expression ablesen. Interleukin-6 zeigte sich in diesem Versuch bei den Erythropoietin behandelten Tieren gesteigert, Signifikanzniveau wurde jedoch knapp nicht erreicht. Auch Hypoxia-inducible-factor 1-alpha (HIF-1 α) mRNA wurde vermehrt exprimiert, ebenfalls jedoch ohne statistische Signifikanz. Die mRNA Expression von VEGF zeigte sich initial in der Erythropoietin-Gruppe erhöht, zu den späteren Messungszeitpunkten verschob sich dieser

Trend zugunsten der Kontrollgruppe. Ähnliche Ergebnisse detektierten wir für HGF. Dieses Phänomen suggeriert in Verbindung mit den Nekrose-Daten eine Beschleunigung des regenerativen Ablaufes durch Erythropoietin. Möglicherweise gelingt durch die Erythropoietin Behandlung eine effektivere Eliminierung definitiv untergegangener Zellen (Nekrose), während die anti-apoptotische Potenz bereits initial den programmierten Zelltod limitiert. Die duale Rolle von Apoptose und Nekrose im Rahmen der Leberschädigung unterstreichen Malhi et al.[91].

Neben den tierexperimentellen Daten zur Leberschädigung und -regeneration wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit auch klinische Daten erhoben. Hierbei richtete sich ein spezieller Fokus auf die wechselseitigen Einflüsse der hepatischen Regenerationsfähigkeit und der Hepatitis-C als bestehender Grunderkrankung. Weiterhin beschäftigt sich der klinische Teil dieser Arbeit mit dem Problem der exakten Diagnosestellung der Hepatitis-C Reinfektion nach Lebertransplantation sowie der Entwicklung eines innovativen differentialdiagnostischen Verfahrens.

In der klinischen Studie eines Kollektivs von 289 Patienten, die an der Charité aufgrund einer Hepatitis-C induzierten Leberzirrhose transplantiert wurden, wurde der Einfluss der postoperativen Leberregeneration auf die Intensität der Hepatitis-C Reinfektion untersucht. Die Splitleber-Transplantation, d.h. die Transplantation nur eines Leberlappens, zieht aufgrund der reduzierten Parenchymmasse zwangsläufig einen erhöhten Regenerationsreiz nach sich. Eine solche Splitleber-Transplantation wird häufig im Sinne einer Leberlebend-Spende durchgeführt. In der Literatur werden deutlich intensiverte Hepatitis-C Reinfektionen mit vermehrter Fibrosebildung und konsekutivem Organversagen nach Teilleber-Transplantation beschrieben [36, 99]. Diese Erkenntnisse werden ausgesprochen kontrovers diskutiert [37, 100-102], besonders im Falle einer Leberlebend-Spende jedoch ist es erforderlich, die Sinnhaftigkeit und Effektivität der Transplantation sehr kritisch zu überprüfen, da neben dem Empfänger-Risiko hier auch noch das Spender-Risiko ins Gewicht fällt. Anhand exakter Verlaufsdokumentation und insbesondere in regelmässigen Abständen entnommenen Gewebebiopsien des Transplantates wurde der Einfluss des reduzierten Lebervolumens im Falle einer Splitleber-Transplantation auf die Entwicklung der Hepatitis-C Reinfektion untersucht.

Hierbei zeigten sich in unserem Patientenkollektiv bei Exklusion aller Patienten mit hepatozellulärem Karzinom eine identische Organ- und Empfänger-Überlebensrate für full-size und Splitleber-Transplantations Patienten. Trotz leicht erhöhter entzündlicher Aktivität in den Splitleber-Transplantaten schlug sich diese mittelfristig nicht in einer vermehrten oder intensivierten Fibrosebildung nieder.

Die Literatur beschreibt intensivierte HCV-Reinfektion bedingte Fibrose-Entwicklung nicht nur nach Teilleber-Transplantation, sondern insbesondere im Falle gehäufte Abstoßungs-Episoden respektive Hochdosis-Steroid-Therapien [102-104].

Die exakte Differentialdiagnose zwischen Hepatitis-C Reinfektion und akuter Rejektion, die meist eine Hochdosis-Steroid-Therapie nach sich zieht, ist somit von entscheidender prognostischer Bedeutung. Berenguer et al. haben zeigen können, dass das Risiko eines schweren Verlaufes der Hepatitis-C Reinfektion proportional mit der Anzahl und Intensität der Abstoßungstherapie ansteigt [102]. Der Goldstandard der Rejektions-bzw. Hepatitis-C Reinfektions-Diagnostik besteht in der histopathologischen Auswertung einer Leberbiopsie. Die differentialdiagnostische Trennung zwischen HCV-Reinfektion und akuter Rejektion ist jedoch selbst für den erfahrenen Pathologen häufig extrem schwierig [45, 105]. Regev et al. konnten aufzeigen, dass die Verlässlichkeit der histopathologischen Diagnose sehr variabel sein kann [45]. Aus diesem Grunde haben wir versucht, einen zusätzlichen Verlässlichkeits-Parameter in die Diagnosefindung einzuführen: C4d als Spalt-Endprodukt der aktivierten Komplement-Kaskade hat sich in der Vergangenheit als Marker der humoralen Rejektion auf dem Sektor der Nierentransplantation etabliert [106, 107].

Der Ansatz der hier vorgelegten Studie bestand darin, humorale Komponenten auch im Rahmen der primär zellulär basierten Rejektion nach Lebertransplantation nachzuweisen und so eine klare Abgrenzung zum HCV-Reinfekt zu schaffen. In unserer Untersuchung von insgesamt 97 Patienten, deren Leberbiopsien immunhistologisch und mittels Immunfluoreszenz auf C4d Expression untersucht wurden, ließ sich eine signifikant gehäufte bzw. intensivierete C4d-Expression in Transplantatlebern nachweisen, die eine akute Abstoßungsreaktion durchmachten. Die vom Hepatitis-C Reinfekt inflammatorisch veränderten Lebern zeigten diese Ausprägung wesentlich seltener und weniger intensiv. In der retrospektiven Aufarbeitung der einzelnen Fälle unter besonderer Berücksichtigung des weiteren klinischen Verlaufes konnten wir so bei einzelnen Patienten stattgehabte Fehldiagnosen mit konsekutiv kontraindizierter Behandlung nachweisen. Alternative Verfahren zur Verbesserung der diagnostischen Trennschärfe sind vereinzelt untersucht worden [108-110], haben sich jedoch meist in der klinischen Praxis als inadäquat geeignet erwiesen, da sie sich meist als zu langwierig, teuer oder zu wenig exakt herausstellten. Mit der immunhistologischen C4d-Nachweis Methode steht somit eine valide Erweiterung des differentialdiagnostischen Methoden-Spektrums zur Verfügung, die nicht nur relativ kostengünstig und nahezu ubiquitär verfügbar ist, sondern auch rasch einsetzbar ist.

4. Zusammenfassung

Die Leberregeneration ist ein komplexer Vorgang, der verschiedenen Einflussfaktoren unterliegt und über unterschiedlichste Signalkaskaden gesteuert wird. Gemeinsamer Ausgangspunkt aller dieser Mechanismen ist die traumatische Leberschädigung, welche ein chirurgischer Lebereingriff, sei es eine Leberteilresektion oder eine Lebertransplantation, darstellt. Die Gefahr eines ausgedehnten chirurgischen Lebertraumas liegt insbesondere in der postoperativen Leberinsuffizienz mit häufig letalem Ausgang. Im Falle einer Lebertransplantation sind vor allem die Organqualität sowie die zugrunde liegende Erkrankung von entscheidender Bedeutung. Aufgrund des weltweit existierenden Mangels an verfügbaren Spenderorganen sind in der jüngeren Vergangenheit zunehmend auch Spenderlebern minderer Qualität zur Transplantation akzeptiert worden. Die Transplantatqualität wird neben der festen Einflussgröße des Spenders entscheidend durch das Ausmaß des Ischämie-Reperfusionsschadens bestimmt.

Die weltweit häufigste Indikation zur Lebertransplantation stellt die Hepatitis-C bedingte Leberzirrhose dar. Aufgrund der nahezu 100 %-igen viralen Rezidivrate bieten die frühzeitige exakte Diagnose, die Behandlung sowie die Begleitung und Prognose des Verlaufes die zentralen Herausforderungen für den behandelnden Arzt.

Im Rahmen der hier vorgelegten Arbeiten wurden folgende Aspekte der Leberregeneration nach Leberteilresektion und Lebertransplantation unter besonderer Berücksichtigung der geschilderten Problematik der Hepatitis-C als Grunderkrankung untersucht:

1. Erythropoietin als endogenes, rekombinant herstellbares Hormon hat seine protektive und regenerative Kapazität im Rahmen von Studien zum zerebralen Apoplex und zum Myokardinfarkt unter Beweis gestellt. Die vorliegenden Arbeiten evaluieren die Wertigkeit von Erythropoietin als Stimulanz der Leberregeneration nach ausgedehnter Leberteilresektion sowie Lebertransplantation im Rattenmodell. Ein besonderer Fokus wird hierbei auf die Regenerationsfähigkeit sogenannter „marginaler“ Organe unter Erythropoietin-Behandlung gelegt.

2. Die Hepatitis-C stellt für die postoperative Leberregeneration ein besonderes Problem dar, denn mit dem durch das Lebertrauma generierten Regenerationsreiz kommt es ggf. auch zu einer intensivierten viralen Belastung der Leber. Zusätzlich bietet die exakte Diagnosestellung der Hepatitis-C Reinfektion eine schwierige Herausforderung, hier kann die histopathologische Ähnlichkeit nicht selten zu einer Fehldiagnose als akute Rejektion führen, was signifikante Fehler in der Behandlung mit potentieller Prognoseverschlechterung nach sich zieht. Der klinische Teil der vorliegenden Arbeit untersucht den Einfluss der Leberregeneration nach Splitleber-Transplantation bei Hepatitis-C Patienten und entwickelt ein innovatives diagnostisches Verfahren zur Sicherung der Differentialdiagnose Hepatitis-C Reinfektion vs. akute Rejektion.

Die vorgestellten Arbeiten zeigen, dass eine Erythropoietin-Behandlung im Rattenmodell zu einer signifikanten Verbesserung der Leberregeneration nach ausgedehnter Leberresektion führt. Eine gesteigerte Mitose-Rate der Hepatozyten sowie gesteigerte intrazelluläre Proliferationsaktivität (PCNA, Ki-67) belegen dies.

Im Modell der Rattenleber-Transplantation bewirkt die Erythropoietin-Behandlung eine Reduktion des Ischämie-Reperfusionsschadens mit Verringerung des postoperativen Leberenzym-Niveaus sowie Senkung der Apoptose-Rate.

Das Modell der Transplantation stark steatotischer Rattenlebern (\approx marginale Organe) schließlich zeigt für die mit Erythropoietin behandelten Tiere einen signifikanten Überlebensvorteil auf, bedingt durch eine Reduktion des Ischämie-Reperfusionsschadens sowie eine verbesserte Regenerationskapazität des Organs.

Im klinischen Setting weist die Untersuchung von insgesamt 289 lebertransplantierten Patienten mit Hepatitis-C nach, dass eine Splitleber-Transplantation kein erhöhtes Risiko einer verschärften Hepatitis-C Reinfektion nach sich zieht. Da die Splitleber-Transplantation häufig als Lebendspende-Transplantation durchgeführt wird, kann das in der Literatur postulierte inakzeptable Spender-Risiko bei erhöhter Quote schwerer HCV-Reinfekte somit an dieser Stelle nicht bestätigt werden.

Der schwere Hepatitis-C Reinfekt wird begünstigt durch eine fälschlicherweise eingeleitete Rejektionstherapie mit Hochdosis-Steroiden. Eine solche Fehleinschätzung der klinischen Situation kommt durch die Komplexität der Differentialdiagnose zur akuten Rejektion nicht selten vor und stellt ein gravierendes klinisches Problem dar. Mit dem Nachweis der signifikant vermehrten Expression des Komplement-Spaltproduktes C4d im Falle einer akuten Rejektion wird hier ein wichtiger differentialdiagnostischer Marker vorgestellt, der rasch und unkompliziert eingesetzt werden kann.

Aus den vorgestellten Arbeiten ergeben sich potentielle innovative diagnostische und therapeutische Ansätze für die klinische Praxis. So bietet das endogene humane Hormon Erythropoietin im Vergleich zu zahlreichen anderen Substanzen, die im Tierversuch eine Verringerung des Ischämie-Schadens bzw. eine verbesserte Leberregeneration aufzeigen konnten, den Vorteil, dass es sich um eine langjährig im klinischen Alltag erprobte Substanz mit sehr gut untersuchtem und überschaubarem Nebenwirkungspotential handelt. Sollten sich in den nunmehr anstehenden Großtier-Versuchen die positiven Ergebnisse aus dem Rattenmodell bestätigen, so ist ggf. der Weg in die klinische Erprobung nicht allzu weit.

5. Literaturangaben

1. Abdelrahman, M., et al., *Erythropoietin attenuates the tissue injury associated with hemorrhagic shock and myocardial ischemia*. Shock, 2004. **22**(1): p. 63-9.
2. Parsa, C.J., et al., *A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart*. J Clin Invest, 2003. **112**(7): p. 999-1007.
3. Patel, N.S., et al., *Pretreatment with EPO reduces the injury and dysfunction caused by ischemia/reperfusion in the mouse kidney in vivo*. Kidney Int, 2004. **66**(3): p. 983-9.
4. Glanemann, M., et al., *Ischemic preconditioning and methylprednisolone both equally reduce hepatic ischemia/reperfusion injury*. Surgery, 2004. **135**(2): p. 203-14.
5. Glanemann, M., et al., *Ischemic preconditioning protects from hepatic ischemia/reperfusion-injury by preservation of microcirculation and mitochondrial redox-state*. J Hepatol, 2003. **38**(1): p. 59-66.
6. Selzner, N., et al., *Ischemic preconditioning protects the steatotic mouse liver against reperfusion injury: an ATP dependent mechanism*. J Hepatol, 2003. **39**(1): p. 55-61.
7. Bahcekapili, N., et al., *The relationship between erythropoietin pretreatment with blood-brain barrier and lipid peroxidation after ischemia/reperfusion in rats*. Life Sci, 2007. **80**(14): p. 1245-51.
8. Bailey, D.M., et al., *Erythropoietin depletes iron stores: antioxidant neuroprotection for ischemic stroke?* Stroke, 2006. **37**(10): p. 2453.
9. Belayev, L., et al., *Neuroprotective effect of darbepoetin alfa, a novel recombinant erythropoietic protein, in focal cerebral ischemia in rats*. Stroke, 2005. **36**(5): p. 1071-6.
10. Faure, S., et al., *Synergistic protective effects of erythropoietin and olmesartan on ischemic stroke survival and post-stroke memory dysfunctions in the gerbil*. J Hypertens, 2006. **24**(11): p. 2255-61.
11. Ehrenreich, H., W. Timner, and A.L. Siren, *A novel role for an established player: anemia drug erythropoietin for the treatment of cerebral hypoxia/ischemia*. Transfus Apher Sci, 2004. **31**(1): p. 39-44.
12. Gunnarson, E., et al., *Erythropoietin modulation of astrocyte water permeability as a component of neuroprotection*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009.
13. Li, L., et al., *MRI Identification of White Matter Reorganization Enhanced by Erythropoietin Treatment in a Rat Model of Focal Ischemia*. Stroke, 2009.
14. Villa, P., et al., *Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis*. J Exp Med, 2003. **198**(6): p. 971-5.
15. Binbrek, A.S., et al., *The potential of erythropoietin for conferring cardioprotection complementing reperfusion*. Coron Artery Dis, 2007. **18**(7): p. 583-5.
16. Calvillo, L., et al., *Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(8): p. 4802-6.
17. Schmeding, M., et al., *Erythropoietin reduces ischemia-reperfusion injury in the rat liver*. Eur Surg Res, 2007. **39**(3): p. 189-97.
18. Sepodes, B., et al., *Recombinant human erythropoietin protects the liver from hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat*. Transpl Int, 2006. **19**(11): p. 919-26.
19. Hochhauser, E., et al., *Recombinant human erythropoietin attenuates hepatic injury induced by ischemia/reperfusion in an isolated mouse liver model*. Apoptosis, 2008. **13**(1): p. 77-86.
20. Bilzer, M. and A.L. Gerbes, *Preservation injury of the liver: mechanisms and novel therapeutic strategies*. J Hepatol, 2000. **32**(3): p. 508-15.
21. Bilzer, M., et al., *Prevention of Kupffer cell-induced oxidant injury in rat liver by atrial natriuretic peptide*. Am J Physiol, 1999. **276**(5 Pt 1): p. G1137-44.
22. Boros, P. and J.S. Bromberg, *New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury*. Am J Transplant, 2006. **6**(4): p. 652-8.
23. Busuttil, R., *Liver ischaemia and reperfusion injury*. Br J Surg, 2007. **94**(7): p. 787-8.

24. Camargo, C.A., Jr., et al., *Interleukin-6 protects liver against warm ischemia/reperfusion injury and promotes hepatocyte proliferation in the rodent*. *Hepatology*, 1997. **26**(6): p. 1513-20.
25. Defamie, V., et al., *Matrix metalloproteinase inhibition protects rat livers from prolonged cold ischemia-warm reperfusion injury*. *Hepatology*, 2008. **47**(1): p. 177-85.
26. Fondevila, C., et al., *Biliverdin therapy protects rat livers from ischemia and reperfusion injury*. *Hepatology*, 2004. **40**(6): p. 1333-41.
27. Hamada, T., et al., *Metalloproteinase-9 deficiency protects against hepatic ischemia/reperfusion injury*. *Hepatology*, 2008. **47**(1): p. 186-98.
28. Hassan-Khabbar, S., et al., *Postischemic treatment by trans-resveratrol in rat liver ischemia-reperfusion: a possible strategy in liver surgery*. *Liver Transpl*, 2008. **14**(4): p. 451-9.
29. Katsumi, H., et al., *Prevention of hepatic ischemia/reperfusion injury by prolonged delivery of nitric oxide to the circulating blood in mice*. *Transplantation*, 2008. **85**(2): p. 264-9.
30. Ke, B., et al., *Cytoprotective and antiapoptotic effects of IL-13 in hepatic cold ischemia/reperfusion injury are heme oxygenase-1 dependent*. *Am J Transplant*, 2003. **3**(9): p. 1076-82.
31. Schauer, R.J., et al., *Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after prolonged warm ischemia*. *Ann Surg*, 2004. **239**(2): p. 220-31.
32. Amin, M.G., et al., *Expanded criteria donor grafts for deceased donor liver transplantation under the MELD system: a decision analysis*. *Liver Transpl*, 2004. **10**(12): p. 1468-75.
33. Schaubel, D.E., et al., *The survival benefit of deceased donor liver transplantation as a function of candidate disease severity and donor quality*. *Am J Transplant*, 2008. **8**(2): p. 419-25.
34. Fausto, N., *Involvement of the innate immune system in liver regeneration and injury*. *J Hepatol*, 2006. **45**(3): p. 347-9.
35. Fausto, N., A.D. Laird, and E.M. Webber, *Liver regeneration. 2. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration*. *FASEB J*, 1995. **9**(15): p. 1527-36.
36. Garcia-Retortillo, M., et al., *Hepatitis C recurrence is more severe after living donor compared to cadaveric liver transplantation*. *Hepatology*, 2004. **40**(3): p. 699-707.
37. Bozorgzadeh, A., et al., *Impact of hepatitis C viral infection in primary cadaveric liver allograft versus primary living-donor allograft in 100 consecutive liver transplant recipients receiving tacrolimus*. *Transplantation*, 2004. **77**(7): p. 1066-70.
38. Durand, F. and J. Belghiti, *[Liver transplantation in adults]*. *Med Sci (Paris)*, 2005. **21**(1): p. 89-94.
39. Pfitzmann, R., et al., *Long-term survival and predictors of relapse after orthotopic liver transplantation for alcoholic liver disease*. *Liver Transpl*, 2007. **13**(2): p. 197-205.
40. Said, A., M. Einstein, and M.R. Lucey, *Liver transplantation: an update 2007*. *Curr Opin Gastroenterol*, 2007. **23**(3): p. 292-8.
41. Ascher, N.L., et al., *Liver transplantation for hepatitis C virus-related cirrhosis*. *Hepatology*, 1994. **20**(1 Pt 2): p. 24S-27S.
42. Austin, G.L., et al., *Comparative analysis of outcome following liver transplantation in US veterans*. *Am J Transplant*, 2004. **4**(5): p. 788-95.
43. Berenguer, M., *Natural history of recurrent hepatitis C*. *Liver Transpl*, 2002. **8**(10 Suppl 1): p. S14-8.
44. Neumann, U.P., et al., *Long-term outcome of liver transplants for chronic hepatitis C: a 10-year follow-up*. *Transplantation*, 2004. **77**(2): p. 226-31.
45. Regev, A., et al., *Reliability of histopathologic assessment for the differentiation of recurrent hepatitis C from acute rejection after liver transplantation*. *Liver Transpl*, 2004. **10**(10): p. 1233-9.
46. Veitch, K., et al., *Mitochondrial damage during cardiac ischaemia and reperfusion: the role of oxygen*. *Biochem Soc Trans*, 1990. **18**(4): p. 548.
47. Tani, M. and J.R. Neely, *Na⁺ accumulation increases Ca²⁺ overload and impairs function in anoxic rat heart*. *J Mol Cell Cardiol*, 1990. **22**(1): p. 57-72.

48. Noack, G., et al., *Correlations between radiological and cytological findings in early development of bronchopulmonary dysplasia*. Eur J Pediatr, 1993. **152**(12): p. 1024-9.
49. Saido, T.C., H. Sorimachi, and K. Suzuki, *Calpain: new perspectives in molecular diversity and physiological-pathological involvement*. FASEB J, 1994. **8**(11): p. 814-22.
50. Jaeschke, H., *Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver*. Chem Biol Interact, 1991. **79**(2): p. 115-36.
51. Jaeschke, H., et al., *Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia*. Free Radic Res Commun, 1991. **15**(5): p. 277-84.
52. Jaeschke, H. and A. Farhood, *Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver*. Am J Physiol, 1991. **260**(3 Pt 1): p. G355-62.
53. Jaeschke, H., et al., *Sequestration of neutrophils in the hepatic vasculature during endotoxemia is independent of beta 2 integrins and intercellular adhesion molecule-1*. Shock, 1996. **6**(5): p. 351-6.
54. Jaeschke, H., et al., *Mechanisms of inflammatory liver injury: adhesion molecules and cytotoxicity of neutrophils*. Toxicol Appl Pharmacol, 1996. **139**(2): p. 213-26.
55. Jaeschke, H., *Preservation injury: mechanisms, prevention and consequences*. J Hepatol, 1996. **25**(5): p. 774-80.
56. Vollmar, B., et al., *Impact of leukocyte-endothelial cell interaction in hepatic ischemia-reperfusion injury*. Am J Physiol, 1994. **267**(5 Pt 1): p. G786-93.
57. Wanner, G.A., et al., *Liver ischemia and reperfusion induces a systemic inflammatory response through Kupffer cell activation*. Shock, 1996. **5**(1): p. 34-40.
58. Jaeschke, H., et al., *Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia*. Am J Physiol, 1993. **264**(4 Pt 1): p. G801-9.
59. Jaeschke, H., et al., *Serum complement mediates endotoxin-induced cysteinyl leukotriene formation in rats in vivo*. Am J Physiol, 1992. **263**(6 Pt 1): p. G947-52.
60. Bauer, M., et al., *Comparative effects of crystalloid and small volume hypertonic hyperoncotic fluid resuscitation on hepatic microcirculation after hemorrhagic shock*. Circ Shock, 1993. **40**(3): p. 187-93.
61. Menger, M.D., et al., *Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury*. Hepatogastroenterology, 1999. **46 Suppl 2**: p. 1452-7.
62. Yamauchi, J., et al., *Role of TNF-alpha in local surgical trauma-induced microvascular dysfunction*. Dig Surg, 1999. **16**(5): p. 400-6.
63. Jaeschke, H., *Kupffer cell-induced oxidant stress during hepatic ischemia-reperfusion: does the controversy continue?* Hepatology, 1999. **30**(6): p. 1527-8.
64. Jaeschke, H., et al., *Glutathione peroxidase-deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia: importance of an intracellular oxidant stress*. Hepatology, 1999. **29**(2): p. 443-50.
65. Kohli, V., et al., *Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver*. Transplantation, 1999. **67**(8): p. 1099-105.
66. Zheng, L., et al., *Induction of apoptosis in mature T cells by tumour necrosis factor*. Nature, 1995. **377**(6547): p. 348-51.
67. Squier, M.K. and J.J. Cohen, *Calpain and cell death*. Cell Death Differ, 1996. **3**(3): p. 275-83.
68. Vollmar, B., et al., *Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion*. Am J Pathol, 1994. **145**(6): p. 1421-31.
69. Vollmar, B., et al., *Depressed phagocytic activity of Kupffer cells after warm ischemia-reperfusion of the liver*. J Hepatol, 1994. **20**(2): p. 301-4.
70. Cariou, A., et al., *Early high-dose erythropoietin therapy and hypothermia after out-of-hospital cardiac arrest: a matched control study*. Resuscitation, 2008. **76**(3): p. 397-404.
71. Grasso, G., et al., *Neuroprotection by erythropoietin administration after experimental traumatic brain injury*. Brain Res, 2007. **1182**: p. 99-105.
72. Kumral, A., et al., *Erythropoietin attenuates lipopolysaccharide-induced white matter injury in the neonatal rat brain*. Neonatology, 2007. **92**(4): p. 269-78.

73. Kretz, A., et al., *Erythropoietin promotes regeneration of adult CNS neurons via Jak2/Stat3 and PI3K/AKT pathway activation*. Mol Cell Neurosci, 2005. **29**(4): p. 569-79.
74. Tsai, P.T., et al., *A critical role of erythropoietin receptor in neurogenesis and post-stroke recovery*. J Neurosci, 2006. **26**(4): p. 1269-74.
75. Villa, P., et al., *Reduced functional deficits, neuroinflammation, and secondary tissue damage after treatment of stroke by nonerythropoietic erythropoietin derivatives*. J Cereb Blood Flow Metab, 2007. **27**(3): p. 552-63.
76. Zhang, J., et al., *Erythropoietin treatment improves neurological functional recovery in EAE mice*. Brain Res, 2005. **1034**(1-2): p. 34-9.
77. Rudich, S.M., et al., *Dose response to a single intramuscular injection of recombinant adeno-associated virus-erythropoietin in monkeys*. J Surg Res, 2000. **90**(2): p. 102-8.
78. Haga, S., et al., *Compensatory recovery of liver mass by Akt-mediated hepatocellular hypertrophy in liver-specific STAT3-deficient mice*. J Hepatol, 2005. **43**(5): p. 799-807.
79. Takehara, T., et al., *Hepatocyte-specific disruption of Bcl-xL leads to continuous hepatocyte apoptosis and liver fibrotic responses*. Gastroenterology, 2004. **127**(4): p. 1189-97.
80. Fausto, N., *Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells*. Hepatology, 2004. **39**(6): p. 1477-87.
81. Yoshida, K., et al., *Transforming growth factor-beta and platelet-derived growth factor signal via c-Jun N-terminal kinase-dependent Smad2/3 phosphorylation in rat hepatic stellate cells after acute liver injury*. Am J Pathol, 2005. **166**(4): p. 1029-39.
82. Kobayashi, H., et al., *Mechanism and prevention of ischemia-reperfusion-induced liver injury in rats*. J Surg Res, 1991. **51**(3): p. 240-4.
83. Jeyabalan, G., et al., *Arginase blockade protects against hepatic damage in warm ischemia-reperfusion*. Nitric Oxide, 2008. **19**(1): p. 29-35.
84. Kiemer, A.K., et al., *Atrial natriuretic peptide reduces expression of TNF-alpha mRNA during reperfusion of the rat liver upon decreased activation of NF-kappaB and AP-1*. J Hepatol, 2000. **33**(2): p. 236-46.
85. Kornberg, A., et al., *Impact of selective prostaglandin E1 treatment on graft perfusion and function after liver transplantation*. Hepatogastroenterology, 2004. **51**(56): p. 526-31.
86. Teoh, N.C., et al., *Diannexin, a novel annexin V homodimer, provides prolonged protection against hepatic ischemia-reperfusion injury in mice*. Gastroenterology, 2007. **133**(2): p. 632-46.
87. Barry, S.P., et al., *Role of the JAK-STAT pathway in myocardial injury*. Trends Mol Med, 2007. **13**(2): p. 82-9.
88. Bolli, R., B. Dawn, and Y.T. Xuan, *Emerging role of the JAK-STAT pathway as a mechanism of protection against ischemia/reperfusion injury*. J Mol Cell Cardiol, 2001. **33**(11): p. 1893-6.
89. Heidbreder, M., et al., *Hypoxia rapidly activates HIF-3alpha mRNA expression*. Faseb J, 2003. **17**(11): p. 1541-3.
90. Uehara, T., et al., *JNK mediates hepatic ischemia reperfusion injury*. J Hepatol, 2005. **42**(6): p. 850-9.
91. Malhi, H., G.J. Gores, and J.J. Lemasters, *Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths?* Hepatology, 2006. **43**(2 Suppl 1): p. S31-44.
92. Guarrera, J.V., et al., *Hypothermic Machine Preservation in Human Liver Transplantation: The First Clinical Series*. Am J Transplant, 2009.
93. Dutkowski, P., O. de Rougemont, and P.A. Clavien, *Machine perfusion for 'marginal' liver grafts*. Am J Transplant, 2008. **8**(5): p. 917-24.
94. Merion, R.M., et al., *The survival benefit of liver transplantation*. Am J Transplant, 2005. **5**(2): p. 307-13.
95. Arnault, I., et al., *Beneficial effect of pentoxifylline on microvesicular steatotic livers submitted to a prolonged cold ischemia*. Transplantation, 2003. **76**(1): p. 77-83.
96. Chavin, K.D., et al., *Fatty acid synthase blockade protects steatotic livers from warm ischemia reperfusion injury and transplantation*. Am J Transplant, 2004. **4**(9): p. 1440-7.

97. Lehmann, T.G., et al., *Effects of three superoxide dismutase genes delivered with an adenovirus on graft function after transplantation of fatty livers in the rat*. *Transplantation*, 2003. **76**(1): p. 28-37.
98. Selzner, N., et al., *Mouse livers with macrosteatosis are more susceptible to normothermic ischemic injury than those with microsteatosis*. *J Hepatol*, 2006. **44**(4): p. 694-701.
99. Gaglio, P.J., et al., *Increased risk of cholestatic hepatitis C in recipients of grafts from living versus cadaveric liver donors*. *Liver Transpl*, 2003. **9**(10): p. 1028-35.
100. Russo, M.W., et al., *Patient and graft survival in hepatitis C recipients after adult living donor liver transplantation in the United States*. *Liver Transpl*, 2004. **10**(3): p. 340-6.
101. Shiffman, M.L., et al., *Histologic recurrence of chronic hepatitis C virus in patients after living donor and deceased donor liver transplantation*. *Liver Transpl*, 2004. **10**(10): p. 1248-55.
102. Berenguer, M., et al., *A model to predict severe HCV-related disease following liver transplantation*. *Hepatology*, 2003. **38**(1): p. 34-41.
103. Berenguer, M., *Host and donor risk factors before and after liver transplantation that impact HCV recurrence*. *Liver Transpl*, 2003. **9**(11): p. S44-7.
104. Lake, J.R., *The role of immunosuppression in recurrence of hepatitis C*. *Liver Transpl*, 2003. **9**(11): p. S63-6.
105. Tannapfel, A. and C. Wittekind, *Differential diagnosis of acute rejection versus hepatitis reinfection*. *Transplant Proc*, 2003. **35**(6): p. 2082-3.
106. Regele, H., et al., *Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: a contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection*. *J Am Soc Nephrol*, 2002. **13**(9): p. 2371-80.
107. Mauiyyedi, S. and R.B. Colvin, *Humoral rejection in kidney transplantation: new concepts in diagnosis and treatment*. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2002. **11**(6): p. 609-18.
108. Sreekumar, R., et al., *Differential allograft gene expression in acute cellular rejection and recurrence of hepatitis C after liver transplantation*. *Liver Transpl*, 2002. **8**(9): p. 814-21.
109. Ciccorossi, P., et al., *Increasing serum levels of IgM anti-HCV are diagnostic of recurrent hepatitis C in liver transplant patients with ALT flares*. *J Viral Hepat*, 2003. **10**(3): p. 168-73.
110. Gottschlich, M.J., et al., *The use of hepatitis C viral RNA levels in liver tissue to distinguish rejection from recurrent hepatitis C*. *Liver Transpl*, 2001. **7**(5): p. 436-41.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Peter Neuhaus, an dessen Klinik ich nicht nur hervorragenden Bedingungen vorgefunden habe, um die hier vorgelegte Arbeit zu erstellen, sondern unter dessen Leitung ich auch eine umfassende, faszinierende und im besten Sinne fordernde und fördernde Ausbildung zum Chirurgen erhalten habe.

Ich bedanke mich auf das Herzlichste bei Herrn PD Dr. Ulf Neumann, der mich in den vergangenen Jahren stets als Rat- und Ideengeber, Diskussionspartner und Freund begleitet hat.

Frau Sabine Boas-Knoop gebührt mein besonderer Dank für die extrem engagierte, selbstlose und unterstützende Art und Weise, in der sie während des gesamten Zeitraumes meiner wissenschaftlichen Arbeit zur Verfügung stand.

Herrn Dr. Gerhard Hunold, Herrn Sebastian Rademacher und Herrn Steffen Lippert danke ich sehr für ihre wertvolle Mitarbeit bei den tierexperimentellen Arbeiten und der medizinisch-technischen Laborarbeit.

Bei Herrn Prof. Dr. Christoph Roecken und Herrn Prof. Dr. Veit Krenn möchte ich mich für die sehr hilfsbereite und kollegiale Zusammenarbeit auf dem Sektor der histo-pathologischen Aufarbeitung und Auswertung der gewonnenen Gewebeprobe bedanken.

Meinen Eltern danke ich für ihre Liebe, Unterstützung und Motivation, die schon lange vor Beginn dieser Arbeit den Grundstein hierzu gelegt haben.

Bei meiner Freundin Katerina möchte ich mich für ihre Geduld und ihr Verständnis bedanken, die sie zweifellos während einiger Phasen meines bisherigen beruflichen und wissenschaftlichen Werdeganges aufbringen musste.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hier mit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde.
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, 11.01.2010

Dr. Maximilian Schmeding