

3. Klinisch- Experimentelle Arbeiten

3.1. Untersuchungen während der Lebertransplantation

Die Untersuchungen erfolgt an Patienten in drei verschiedenen Gruppen:

In der Gruppe I erfolgt die Untersuchung an 11 gesunden Leber-Lebendspendern, um die Messmethode am humanen Patienten zu evaluieren. Dabei erfolgte die Messung unmittelbar nach Laparotomie, noch ehe an der Leber manipuliert wurde (Publikation 1).

Postischämische Mikrozirkulationsveränderungen werden in der Gruppe II an 29 Leber-Lebendempfängern untersucht. Dabei kann dem Organempfänger der jeweilige Spender im Sinne einer Vorher-Nachher Messung zugeordnet werden. Innerhalb der Empfängergruppe II erfolgt die Aufteilung in Untergruppen. In der Gruppe IIA wird die Reperfusion durch initiale Freigabe des portalvenösen Blutflusses durchgeführt, mit einer sequentiellen Freigabe der arteriellen Reperfusion im zeitlichen Abstand von bis zu 30 Minuten nach Beendigung der entsprechenden Anastomose (Publikation 2). In der Gruppe IIB wird der Blutfluss der Pfortader und der Leberarterie auf Kosten einer verlängerten anhepatischen Phase simultan freigegeben (Daten nicht publiziert).

In der Gruppe III erfolgt die Untersuchung an 27 Organempfängern, die eine ganze Leber eines hirntoten Organspenders erhalten. Da in dieser Gruppe aus logistischen Gründen die initiale Basisperfusion des später transplantierten Organs nicht gemessen werden kann, werden die ermittelten Reperusionsparameter den physiologischen Parametern einer Kontrollgruppe von 32 Patienten gegenübergestellt, die sich einer Leberteileresektion zur Leberlebendspende unterzogen (Publikation 3).

3.1.1. Erhebung der Normalwerte humaner hepatischer Mikrozirkulation

Die Lebern von 11 gesunden Patienten werden unmittelbar nach Laparotomie zur Leber-Lebendspende untersucht. Ziel der Untersuchungen ist die erstmalige Visualisierung und Quantifizierung der normalen hepatischen Mikrozirkulation. Zusammenfassend können scharfe und gut kontrastierte intravitalmikroskopische Aufnahmen hepatischer mikrovaskulärer Perfusion aufgezeichnet werden. Dabei zeigt sich eine, aus tierexperimentellen Untersuchungen vergleichbare homogene sinusoidale Perfusion, ohne Zeichen einer mikrovaskulären Dysfunktion. In den einzelnen Sinusoiden können atmungsabhängige Schwankungen der sinusoidalen Erythrozyten-Fließgeschwindigkeiten (RBCV) und das parallele Auftreten schneller und langsamer sinusoidaler RBCV innerhalb eines Azinus beobachtet werden. Der mittlere sinusoidale Durchmesser beträgt $8,8 \pm 0,9 \mu\text{m}$, die intersinusoidale Distanz $22,6 \pm 2,5 \mu\text{m}$ und die funktionelle sinusoidale Dichte $391 \pm 30 \text{cm}^{-1}$. Die sinusoidale RBCV beträgt $0,970 \pm 0,432 \text{mm/s}$. Die Berechnung des volumetrischen Blutflusses im einzelnen Sinusoid ergibt $58 \pm 10 \text{pl/s}$. Mit Ausnahme der RBCV sind alle Werte normalverteilt.

3.1.2. Einfluss der sequentiellen vaskulären Rekonstruktion auf die initiale Mikrozirkulation bei der Leber-Lebendtransplantation

Die initiale Reperfusion nach Lebertransplantation erfolgt in der Regel zuerst durch Freigabe des portalvenösen Blutflusses und verzögerter Freigabe des arteriellen Blutstromes nach entsprechender Fertigstellung der Anastomose. Die Rationale für dieses Vorgehen ist, die portale Klemmzeit, die anhepatische Zeit und die gemischte warme Ischämie zu verkürzen. Ziel dieser Studie ist es, im humanen Modell den Nachweis über das Mikrozirkulationsdefizit, welches der initialen portalen Reperfusion im Vergleich zur primär simultanen Reperfusion der Portalvene und Arteria hepatica folgt, zu führen. Die Untersuchungen werden an insgesamt 14 Organempfängern durchgeführt. Als Ausgangswerte dienen die jeweiligen Messwerte der Organspender; die Analyse kann im Sinne einer Vorher-Nachher Messung erfolgen.

Die Gruppe der initial portalvenösen Reperfusion (=sequentielle Reperfusion) setzt sich wie folgt zusammen:

Parameter		Sequentiell reperfundierte Leberlebendtransplantationen
Anzahl		14
Geschlechtsverteilung m / w		9 / 5
Alter (a)		46,7 ± 22,5 (1 - 69)
Gewicht Empfänger (kg)		57,5 ± 21,2
Transplantatgewicht (g)		586 ± 218
Transplantat-Körpergewicht-Ratio (%)		1,3 ± 0,8
Ischämiezeit des Transplantats (min)		74 ± 29
Anhepatische Phase (min)		44 ± 15
Zeitintervall portale–arterielle Reperfusion (min)		27,7 ± 13,3
Konservierungslösung UW / HTK		8 / 6
Menge Konservierungslösung (ml)		1871 ± 467
Blutgruppen- Kompatibilität	ABO-System ident./nicht ident.	11 / 3
	Rh-System ident./nicht ident.	12 / 2

Transplantatspezifische Daten der Gruppe – sequentielle reperfundierte Leberlebendtransplantation

Die Diagnosen, die in dieser Gruppe zur Lebertransplantation führen, sind in der folgenden Tabelle aufgelistet:

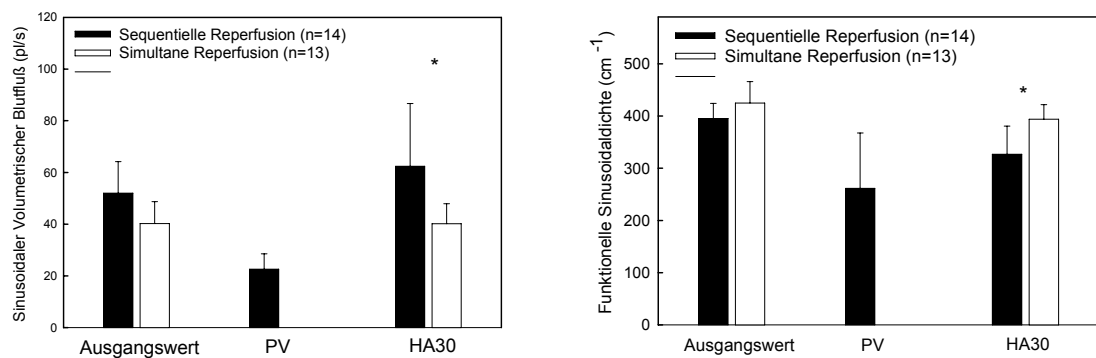
Diagnosen der Transplantationsindikation	Patientenzahl	Anteil in %
Ethanol-toxisch	2	14,3
Hepatitis C	2	14,3
Hepatozelluläres Karzinom bei Hepatitis C	2	14,3
Hepatitis B	2	14,3
Primär sklerosierende Cholangitis	2	14,3
Cholangiozelluläres Karzinom	1	7,1
Hepatozelluläres Karzinom bei ethanol-toxischer Zirrhose	1	7,1
Morbus Wilson mit Leberzirrhose	1	7,1
Leberfibrose bei α -Antitrypsinmangel homozygot	1	7,1

Diagnosen der Patienten der Gruppe – sequentielle reperfundierte Leberlebendtransplantation

Zusammenfassend zeigt sich nach portaler Reperfusion des transplantierten Organs im Vergleich zur Ausgangsuntersuchung ein in Atmungsabhängigkeit oszillierender Blutfluss. Nach Freigabe des arteriellen Blutflusses erfolgt eine rasche Reperfusion der initial nicht perfundierten Sinusoide. Die quantitative Analyse der Mikrozirkulation zeigt eine signifikante Verminderung der sinusoidalen Durchmesser während der portalvenösen Reperfusionsphase. Nach Rearterialisierung steigen die Durchmesser über die Ausgangswerte. Die Erythrozyten-Fließgeschwindigkeit zeigt sich im Vergleich zum Ausgangswert während der portalvenösen Reperfusion stark erniedrigt und erholt sich nach Rearterialisierung nahezu komplett. Aus den sinusoidalen Durchmessern und den jeweils zugehörigen sinusoidalen Erythrozytenflussgeschwindigkeiten errechnet sich der individuelle volumetrische Blutfluss. Entsprechend zeigt sich unter alleiniger portalvenöser Perfusion eine signifikante Erniedrigung des volumetrischen Blutflusses und nach Rearterialisierung eine Kompensation im Sinne einer Hyperämie auf Werte, die oberhalb der Ausgangswerte liegen. Ein ähnliches Bild ergeben die funktionelle sinusoidale Dichte und der intersinusoidale Abstand. Hier zeigt sich ebenfalls die signifikante Abnahme während der alleinigen portalvenösen Perfusion. Im Gegensatz zu den anderen Parametern bleiben die FSD und ISD nach Rearterialisierung signifikant unter den Ausgangswerten. Interessanterweise zeigt das Zeitintervall zwischen portaler Reperfusion und subsequenter Reperfusion der Arteria hepatica (VP-AH-Intervall) und der die nutritive Perfusion widerspiegelnde FSD eine signifikante Korrelation ($r = -0,66$ und $p < 0,05$). Damit nimmt die FSD mit zunehmendem VP-AH-Intervall signifikant ab. Dem gegenüber steht eine direkte Korrelation ($r = 0,84$, $p < 0,05$) zwischen dem VP-AH-Zeitintervall und dem sinusoidalen volumetrischen Blutfluss, wobei der sinusoidale volumetrische Blutfluss mit verlängertem VP-AH-Zeitintervall zunimmt. Die Transaminasen zeigen am zweiten und dritten postoperativen Tag eine inverse signifikante Korrelation mit dem sinusoidalen volumetrischen Blutfluss der initialen portalen Perfusion. Sowohl die anhepatische Zeitperiode als auch die kalte Ischämiezeit des Transplantats korrelieren nicht mit mikrozirkulatorischen Parametern und nicht mit dem postoperativen Transaminasenanstieg.

3.1.2.1. Exemplarische Gegenüberstellung zur simultanen Revaskularisation

In einer noch nicht publizierten Serie wird die o.g. Serie mit Patienten verglichen, bei denen im Rahmen der Leber-Lebendspende eine simultane Reperfusion von Pfortader und Leberarterie durchgeführt wird. In der hier nur exemplarischen Aufstellung zweier Mikrozirkulationsparameter (VBF und FSD) zeigt sich die Überlegenheit der simultanen Revaskularisierung. Zum Einen zeigt sich das sinusoidale Netzwerk von Beginn an signifikant besser perfundiert, zum Anderen fällt das Ausmaß der ischämieabhängigen Hyperämie, dargestellt durch den volumetrischen Blutfluß im einzelnen Sinusoid, signifikant niedriger aus.



Volumetrischer Blutfluß (links) und funktionelle sinusoidale Dichte (rechts): Vergleich zwischen der sequentiellen und simultanen Transplantatreperfusion bei der humanen Leber-Lebendtransplantation. PV= portalvenöse Reperfusion, HA30= 30min nach Arterialisierung (seq) bzw. Reperfusion (sim), * p<0,05 im Vergleich seq vs. sim Reperfusion.

3.1.3. Mikrozirkulationsanalyse während der full-size Lebertransplantation und Prädiktion der frühen Organschädigung anhand der initialen Mikrozirkulation

Die Gruppe III umfaßt 27 Patienten, bei denen eine orthotope Lebertransplantation durchgeführt wird. Im Gegensatz zu der Gruppe der Leber-Lebendtransplantationen erfolgt bei den full-size Transplantationen immer die antegrade simultane Reperfusion der Transplantate. Leider kann aufgrund der logistisch aufwendigen, europaweiten Organvermittlung durch EUROTRANSPLANT eine Basismessung der Mikrozirkulation mittels OPS Imaging vor Organentnahme nicht durchgeführt werden. Daher werden die Messdaten der Reperfusion der OLTX – Gruppe mit den physiologischen Messdaten einer Kontrollgruppe von insgesamt 32 gesunden Leberlebendspendern verglichen.

Die folgende Übersicht zeigt die relevanten demographischen und transplantationspezifischen Daten der Gruppe – OLTX:

Parameter	Spender	Empfänger	Kontrollgruppe
Anzahl	27	27	32
Geschlechtsver /w	15 / 12	18 / 9	15 / 17
Alter	43 ± 22	41 ± 20	43 ± 14
Gewicht (kg)	64 ± 24	63 ± 28	69 ± 12

Demographische Daten der Gruppe - Orthotope Lebertransplantation

Transplantatgewicht (g)		1239 ± 517
Transplantat-Körpergewicht-Ratio (%)		1,908 ± 0,624
Ischämiezeit des Transplantats (min) (h + min)		555 (9 h 15 min) ± 207 (3 h 27 min)
Anhepatische Phase (min)		82 ± 29
Menge Konservierungslösung (ml)		5304 ± 1568
Blutgruppen-	ABO-System ident./nicht ident.	27 / 0
Kompatibilität	Rh-System ident./nicht ident.	19 / 8

Transplantatspezifische Daten der Gruppe - Orthotope Lebertransplantation

Die Diagnosen, die zur Indikation Lebertransplantation führen, sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Diagnosen der Transplantationsindikation	Patientenzahl	Anteil in %
Hepatitis A (in Kombination mit Valpromatmedikation)	1	3.7
Hepatitis B	6	22.2
Hepatitis C	4	14.8
Autoimmun-Hepatitis	1	3.7
Ethanol-toxische Leberschädigung	2	7.4
Hepatozelluläres Carcinom bei idiopathischer Hämochromatose	1	3.7
Budd-Chiari-Syndrom	2	7.4
Retransplantation bei Transplantatversagen	2	7.4
Neonatale Cholestase bei extrahepatischer Gallengangsatresie	1	3.7
Primäre biliäre Zirrhose	1	3.7
Lebermetastasen bei Carcinoid des Caecum	1	3.7
Akutes Leberversagen bei unklarer Genese	1	3.7
M. Caroli mit sekundärer destruierender Cholangitis	1	3.7
Primäre Oxalose Typ I	1	3.7
Gallengangsatresie	1	3.7
EBV-Infektion mit akutem Leberversagen	1	3.7

Diagnosen der Gruppe – Orthotope Lebertransplantation

Mit Hilfe der Eurotransplant - Spenderprotokolle werden wichtige hämodynamische und klinische Parameter dokumentiert, um eine normale Leberfunktion bis zur Organentnahme sicherzustellen.

Parameter		Werte bei Organentnahme
Zeit auf der Intensivstation bis zur Organentnahme (h)		140 ± 207 h
Blutdruck	systolisch (mmHg)	122 ± 19
	diastolisch (mmHg)	72 ± 9
	mittlerer (mmHg)	89 ± 12
Blutbild	Hämoglobin (g/dl)	10,9 ± 2,6
	Hämatokrit (l/l)	0,35 ± 0,05
	Thrombozyten (μl^{-1})	206 400 ± 80 798
	Leukozyten (μl^{-1})	13 265 ± 5883
Gerinnung	Quick (in % der Norm)	85,6 ± 15,3
	PTT (sec)	37,5 ± 11,0
Nierenfunktion	Harnstoff (mg/dl)	29,1 ± 15,0
	Kreatinin (mg/dl)	1,30 ± 1,50
Leberfunktion	AST (U/l)	47,5 ± 67,9
	ALT (U/l)	34,4 ± 37,5
	γ -GT (U/l)	18,5 ± 12,0
	LDH (U/l)	528 ± 591
	CK (U/l)	108 ± 109
	Bilirubin (mg/dl)	0,65 ± 0,45
Elektrolyte	Natrium (mmol/l)	146 ± 7
	Kalium (mmol/l)	4,1 ± 0,6
Stoffwechsellage	Glukose (mg/dl)	176 ± 99

Todesursache der OLTX-Spender	Patientenzahl	Anteil in %
Intrakranielle Blutung	13	48.1
Schädel-Hirn-Trauma	10	37.0
Cerebrale Hypoxie	3	11.1
Hirnödem bei Mikrozephalus	1	3.7

Hämodynamische, klinische Parameter und Todesursachen bei den Organspendern

Zusammenfassend zeigt sich bereits zu Beginn der simultanen Reperfusion eine deutliche sinusoidale Dilatation. Dem gegenüber steht im Vergleich zu den Normalwerten eine Verlangsamung der erythrozytären Fließgeschwindigkeit um ca. 15%. Der sich daraus errechnete volumetrische Blutfluss im einzelnen Sinusoid zeigt im Vergleich zu den Normalwerte eine Steigerung um 22%, wobei sich eine Zunahme des volumtrischen Blutflusses zwischen dem frühen (5 min nach Reperfusion) und dem späten (30 min nach Reperfusion) Messzeitpunkt zeigt. Diese Steigerung des volumetrischen Blutflusses zwischen den beiden Messzeitpunkten zeigt eine signifikante Korrelation mit der kalten Ischämiezeit ($r = - 0,402$, $p < 0,05$). Je länger die kalte Ischämiezeit, desto geringer ist die Steigerung des volumetrischen Blutflusses. Im Gegensatz zum VBF fällt die funktionelle sinusoidale Dichte im Vergleich zu den Normalwerten nach Reperfusion ab. Mit Hilfe der Pearson Produkt Moment Korrelation wird eine inverse Korrelation der FSD und dem VBF ermittelt. Je höher die funktionelle sinusoidale Dichte, desto niedriger der volumetrische Blutfluss in den einzelnen Sinusoiden.

Eine detaillierte Datenaufschlüsselung zeigt, dass 20 Patienten maximale ASAT-Werte unter 1000 U/l (292 ± 267 U/l) aufweisen. Denen gegenüber hatten lediglich sieben Patienten ASAT-Werte, die die 1000 U/l - Marke übersteigen (2675 ± 1373 U/l). Der Bilirubinlevel zeigt signifikante Differenzen zwischen den beiden Gruppen ASAT – Werte < 1000 U/l versus > 1000 U/l. Die mittlere kalte Ischämiezeit zeigt keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,264$) zwischen Kaltischämie und den ASAT - Gruppen < 1000 U/l (522 ± 192 min) und > 1000 U/l (648 ± 235 min). Weiterhin bestaehen keine Differenzen zwischen den beiden ASAT – Gruppen in Hinblick auf Alter des Spenders, Alter des Empfängers, Dauer der anhepatischen Phase oder Zeitdauer der intensivmedizinischen Behandlung des Spenders.

	Gesamtzahl der Patienten	ASAT <1000 U/l	ASAT >1000 U/l
	n = 27	n = 20	n = 7
Spenderalter (Jahren)	43 ± 22	46 ± 21	36 ± 26
Spender Intensivzeit – Dauer (h)	140 ± 207	129 ± 216	174 ± 187
Kalte Ischämiezeit (min)	555 ± 207	522 ± 192	648 ± 235
Anhepatische Phase (min)	82 ± 29	81 ± 29	84 ± 31

Die Pearson Produkt Moment Korrelation zeigt hingegen eine inverse Korrelation zwischen postoperativen ASAT – Werten und der funktionellen sinusoidalen Dichte nach Reperfusion. Dabei sind die Differenzen der FSD zwischen den beiden ASAT – Gruppen < 1000 U/l und > 1000 U/l nicht signifikant. Analog dazu verhalten sich auch die postoperativen Bilirubinwerte. Je höher die initialen FSD – Werte 5 und 30 Minuten nach Reperfusion, desto niedriger die postoperativen Bilirubinlevel. Der volumetrische Blutfluss (VBF) korreliert nicht direkt mit den postoperativen Bilirubinwerten oder ASAT – Werten. Ein signifikanter Zusammenhang besteht jedoch zwischen der prozentualen Änderung des VBF zwischen den 5 und 30 Minuten Reperfusionsmesswerten (5 RP – 30 RP) und sowohl der postoperativen Enzymfreisetzung, als auch den Bilirubinwerten. Diese inverse Korrelation zeigt bei verminderter Kompensation des volumetrischen Blutflusses innerhalb der ersten halben Stunde nach Reperfusion im Verlauf bis zum fünften Tag nach der Transplantation höhere ASAT und Bilirubin Werte.

3.2. Monitoring der Pankreasmikrozirkulation während der simultanen Pankreas- und Nierentransplantation

Intraoperativ wird während simultaner Pankreas-Nierentransplantation bei 13 Patienten die mikrovaskuläre Perfusion des transplantierten Pankreas an mindestens 5 unterschiedlichen Stellen im Bereich des Pankreaskopfes- und korpus jeweils 5 und 30 min nach Transplantatreperfusion erfasst. Als Kontrolle dienen 6 gesunden Individuen, bei denen im Rahmen einer Leber-Lebendspendeoperation die normale pankreatische Mikrozirkulation mitgemessen wird.

Zusammenfassend zeigt sich in den Kontrollen eine homogene acinäre Perfusion mit hoher kapillärer Blutflußgeschwindigkeit und ohne nutritive Dysfunktion. Die postischämische Transplantatreperfusion bewirkt im Vergleich zu den Kontrollpatienten ein heterogenes acinäres Perfusionsmuster mit vereinzelter kapillärer Stase und Thrombose („no reflow“). Die Reperfusion des Transplantates führt zu einer signifikanten Zunahme der kapillaren Durchmesser und Reduktion der FCD auf ca. 80% der Kontrollen. Zudem findet sich nach Reperfusion eine signifikante Abnahme der kapillaren Erythrozytenflußgeschwindigkeit. Der volumetrische kapillare Blutfluß und der Heterogenitätsindex zeigen eine nur geringfügige Zunahme. Die Beeinträchtigungen der acinären mikrovaskulären Perfusion sind zu 5 und 30 min Reperfusion konstant. Die postoperativen CRP Werte, die für die Entwicklung einer Reperfusionspankreatitis hoch-prediktiv sind, und die Serum Amylase-/ Lipasewerte zeigen eine inverse Korrelation zu der mikrovaskulären Dysfunktion. Je ausgeprägter das mikrovaskuläre Defizit, umso höher sind CRP-, Amylase- und Lipasewerte innerhalb der ersten fünf Tage nach Transplantation. Umgekehrt zeigt sich eine positive Korrelation zwischen den postoperativen C-Peptidwerten und der initialen Mikrozirkulation.

3.3. Intraoperatives Monitoring der okulären Mikrozirkulation während der Rekanalisierung der extrakraniellen Arteria carotis interna

Eingeschlossen werden insgesamt 33 Patienten mit einseitigen asymptomatischen und symptomatischen ACI-Stenosen. Die Messungen erfolgen in Analogie zu den einzelnen operativen Schritten. Dabei ist die Tatsache von besonderer Bedeutung, dass alle Operationen mittels temporären Shunt erfolgen, zur Shunteinlage und –entfernung also jeweils ein kurzes Clamping der Arterie im Sinne einer wiederholten warmen Ischämie, notwendig ist. Ausgehend von den Mikrozirkulationsparametern wird das Ausmaß des Perfusionsabfalls, der Vasokonstriktion und der Fließgeschwindigkeit während der Ischämien und anschließenden Reperfusionen mit dem jeweiligen Stenosegrad korreliert. Zusammenfassend zeigt sich während des ersten Arterienclamping zur Shunteinlage eine um bis >50% reduzierte konjunktivale, kapilläre Perfusion, sowohl auf der ipsilateralen, wie auch der kontralateralen Seite. Die Freigabe des Blutstromes, d.h. während Reperfusion sowohl durch den Shunt als auch nach Shuntentfernung, zeigt sich eine komplette Restitution der in der kurzzeitigen Ischämie gestörten Mikrohämodynamik. Im Gegensatz zur Shunteinlage führt die erneute ACI-Ischämie während Shuntentfernung zu ähnlichen, jedoch signifikant reduzierten Perfusionsdefiziten. Die verglichen zu den Ausgangswerten individuell beobachtete Reduktion der Kapillarperfusion auf der ipsi- und kontralateralen Seite während der ersten ACI-Ischämie zeigt eine inverse, signifikante Korrelation ($r = -0,61$; $p < 0,01$) zum präoperativen Stenosegrad.