

Aus der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Nutzung nicht transplantabler humaner Spenderlebern als Zellquelle
für extrakorporale Leberunterstützungssysteme“

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicarum (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Gesine Pleß

aus Bonn

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. P. Neuhaus
2. Prof. Dr. med. A. Bader
3. Prof. Dr. R.A.F.M. Chamuleau

Datum der Promotion: 26.01.2007

Inhaltsverzeichnis

Abstract	1
Einleitung, Zielstellung	2
Methodik	3
Ergebnisse	5
Diskussion	7
Bibliographische Verweise	10
Erklärung	11

Abstract

Das Leberversagen stellt ein lebensbedrohliches Krankheitsbild dar, dessen einzige Langzeittherapie die Lebertransplantation ist, sofern nicht eine Regeneration des eigenen Organs eintritt. Daher wurden verschiedene artifizielle und bioartifizielle Leberunterstützungssysteme entwickelt, die temporär einige Funktionen der Leber übernehmen sollen. Die vorgelegten Veröffentlichungen beschreiben das in unserer Arbeitsgruppe entwickelte *CellModule*, bioartifizieller Bestandteil des ‚Modularen Extrakorporalen Leberunterstützungssystems‘ (MELS), unter verschiedenen Gesichtspunkten. Das *CellModule* ist ein Hohlfaserbioreaktor mit dezentraler Oxygenierung und kontinuierlicher Perfusion, der eine Versorgung der Leberzellen im Interkapillarraum bei geringen Gradienten ermöglicht. Das System wird mit aus abgelehnten Spenderorganen gewonnenen primären humanen Zellen befüllt. In einer retrospektiven Analyse der biochemischen Leistung wurden die Stoffwechsellparameter von 47 Bioreaktoren verglichen und eine Methode zur Auftrennung in leistungsfähige und weniger leistungsfähige Systeme auf der Basis der täglichen Harnstoffproduktion während des potentiellen Therapiezeitraums vorgeschlagen. Die Studie zeigt, dass diese Auftrennung auch in den anderen wesentlichen Parametern nachvollzogen werden kann. Die morphologische Analyse beschreibt den Zustand der Organisation der Zellen im Bioreaktor nach Beendigung der Kulturphase. Anhand verschiedener immunhistochemischer Marker wurden Endothelzellen und Hepatozyten identifiziert, die sich zu charakteristischen Strukturen zusammengesgeschlossen hatten, ebenso Anhäufungen kleiner Zellen, deren Marker auf Vorläuferzellen hinweisen. Die Fallstudie einer Patientin mit primärer Nonfunktion zeigt einen Therapieverlauf unter Einsatz des MELS-Systems. Innerhalb des Behandlungszeitraums von 79 Stunden stellte sich eine erhebliche Besserung des Zustands der Patientin ein, sie klarte zusehends auf und musste nicht mehr beatmet werden. Zusammenfassend kann man sagen, dass primäre humane Leberzellen im *CellModule* über mehrere Wochen Stoffwechselleistung zeigen, nach Beendigung der Kultur immer noch intakte gewebeähnliche Strukturen zu finden sind und das System in Kombination mit artifizieller Detoxifikation zu einer Verbesserung des klinische Zustands von Patienten im Leberversagen führt, ohne dass gravierende Nebenwirkungen auftreten. Um die Wirksamkeit des *CellModule* im Einzelnen nachzuweisen, sind größere Klinikstudien notwendig.

Einleitung, Zielstellung

Fällt die Leberfunktion ganz oder teilweise aus, kommt es zu schweren Gerinnungs- und Kreislaufstörungen, Enzephalopathie und in Folge dessen häufig zum Multiorganversagen. Um die Funktion der Leber zu unterstützen, bis ein geeignetes Organ zur Transplantation zur Verfügung steht oder sich die Leber im Idealfall selber regeneriert und die Funktion wieder aufnimmt, wurden verschiedene artifizielle und bioartifizielle Leberunterstützungssysteme entwickelt. Während artifizielle Systeme an die Dialyse angelehnt sind und hauptsächlich auf die Entgiftung abzielen, wird bei bioartifiziellen Systemen eine biologische Komponente in Form von Leberzellen integriert. Man hofft, auf diese Weise auch die regulatorische und synthetische Kapazität der Leber teilweise ersetzen zu können. Im Falle des in unserer Arbeitsgruppe entwickelten Modularen Extrakorporalen Leberunterstützungssystem (MELS) handelt es sich um einen komplexen, auf Hohlfaserkapillaren basierenden Bioreaktor, der unter Therapie in den Entgiftungskreislauf integriert und mit Patientenplasma durchströmt wird. Zwei hydrophile Kapillarbündel für die Medium- bzw. Plasmaperfusion und ein hydrophobes Bündel für die dezentrale Oxygenierung sind untereinander so verwoben, dass ein dreidimensionales Gerüst entsteht, an dem sich die Leberzellen anlagern können. Der Aufbau ist dem der Leber in vivo nachempfunden: Die Kapillaren bilden kleine repetitive Untereinheiten, so dass in jedem Punkt die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung gewährleistet ist. Das System wird mit primären humanen Leberzellen befüllt, die aus abgelehnten Spenderorganen isoliert wurden. Da die Zellen aus individuell vorgeschädigten Organen stammen, ist es notwendig, die Leistungsfähigkeit der einzelnen Kultur zu charakterisieren. Im so genannten ‚Stand-By‘, dem Zeitraum vor einem klinischen Einsatz, besteht die Möglichkeit, die Leistung der Zellen anhand biochemischer Parameter einzuschätzen, wobei von der Zufuhr der meisten Substrate für spezifische Stoffwechsellasts aufgrund einer potentiellen späteren Therapienutzung weitgehend abzusehen ist. Nach Beendigung der Kultur kann der Bioreaktor geöffnet und eine histologische Untersuchung des Gewebes vorgenommen werden. Da dies ein destruktiver Eingriff ist, besteht keine Möglichkeit, während der Kulturphase histologische Untersuchungen vorzunehmen. Letztendlich muss der Nachweise der Funktionalität des Systems in einer klinischen Studie mit Patienten im Leberversagen erbracht werden. Ziel der vorgelegten Arbeiten war eine möglichst umfassende Charakterisierung des Systems zu allen drei möglichen Zeitpunkten.

Methodik, Ergebnisse, Diskussion

Methodik

Das so genannte MELS „*CellModule*“ ist ein komplexer Bioreaktor, der durch verschiedene Hohlfaserkapillarbündel in mehrere Kompartimente unterteilt ist. Zwei hydrophile und ein hydrophobes Kapillarbündel durchziehen ein Polyurethanegehäuse und sind jeweils separat durch verschiedene Einströmstutzen perfundierbar. Die hydrophilen Polyether-sulfonkapillaren (PES, Membrana, Wuppertal) dienen der Versorgung der Zellen mit Nährmedium bzw. zur Perfusion des Reaktors mit Patientenplasma unter Therapie und sorgen für einen Abtransport von Stoffwechselprodukten. Sie bilden darüber hinaus ein Adhäsionsgerüst, indem sie den Zellen und Zellaggregaten eine große Oberfläche zum Anheften bieten. Die hydrophoben multilaminaren Kapillaren (MHF, Mitsubishi, Tokyo, Japan) dienen der dezentralen Sauerstoff- und CO₂-Versorgung. Die im Bioreaktorkolumen miteinander verwobenen Kapillaren bilden sich ständig wiederholende kleine Einheiten, ähnlich den Leberlobuli, und ermöglichen eine Nährstoff- und Gasversorgung bei niedrigen Gradienten. Zwölf blind endende Silikonschläuche pro Seite, welche ebenfalls über einen Stutzen zugänglich sind, ermöglichen das Einspritzen von Zellen zwischen die Hohlfasern.

Primäre humane Leberzellen wurden mit Hilfe einer modifizierten Fünfschrittperfusion aus zur Transplantation abgelehnten Spenderlebern isoliert. Ein Ethikvotum über die Verwendung dieser Organe für die extrakorporale Leberunterstützung liegt vor. Ablehnungsgrund für ca. 50% der Organe war eine Steatose von über 50%, die meisten anderen wurden wegen Fibrose bzw. Zirrhose, alleine oder in Kombination mit Steatose, nicht für die Transplantation in Betracht gezogen. Die Organe wurden zunächst gespült, dann mit Collagenase enzymatisch verdaut und zum Schluss nach Ruption der Leberkapsel mechanisch zerkleinert. Die einzeln oder in kleinen Aggregaten vorliegenden Zellen wurden nach mehreren Waschschritten in den Interkapillarraum der Bioreaktoren gefüllt. Voraussetzung für eine Zelleinfüllung war ein Anteil von mindestens 50% lebenden Zellen in der Suspension.

Das System wurde während des ‚Stand-By‘ kontinuierlich über die Mediumkapillaren mit Kulturmedium perfundiert, das in einem Schlauchkreislauf über eine Rollerpumpe rezirkuliert wird. Hierbei handelt es sich um ein serumfreies, speziell für die Perfusion von Bioreaktoren entwickeltes Medium (Heparmed VITO, Biochrom AG, Berlin),

welches auf William's E Medium basiert und zusätzlich mit Fructose, Fettsäuren, Spurenelementen und Aminosäuren angereichert wurde. Direkt vor der Verwendung wurden außerdem Insulin, Glucagon, Transferrin und Antibiotika zugesetzt. Galactose und Sorbitol im Medium stellen die Grundlage für einen kontinuierlichen Leberfunktionstest dar. Eine Peristaltikpumpe führt dem Kreislauf eine definierte Menge an Frischmedium pro Stunde zu, um den Nährstoffverbrauch der Zellen auszugleichen. Die gleiche Menge an Altmedium wird aus dem Kreislauf abgeführt, um das Gesamtvolumen konstant zu halten. Proben für biochemische Untersuchungen wurden täglich aus dem Altmedium entnommen.

Die Oxygenierungskapillaren wurde kontinuierlich mit 600ml/min Luft und 10-20ml/min CO₂ durchströmt. Der pH und der Sauerstoffgehalt des Mediums wurden mehrmals täglich mit Hilfe eines Blutgasanalysegerätes (ABL 500, Radiometer, Willich) bestimmt und gegebenenfalls durch Änderung des CO₂-Anteils im Gasgemisch nachreguliert. Das komplette Bioreaktorsystem befindet sich während der Zellkulturphase und unter Therapie in einer auf 37° erwärmten Kammer.

Als Marker für die Zellaktivität und den Grad der Zellschädigung wurden die Enzyme Lactat-Dehydrogenase (LDH), Aspartat-Aminotransferase (AST) und Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), die Konzentrationen von Harnstoff, Ammoniak, Lactat, Glucose, Albumin, Sorbitol und Galaktose sowie verschiedener Ionen im Medium bestimmt. Die biochemischen Daten wurden statistisch ausgewertet und mit verschiedenen Spender- und Isolierungsparametern verglichen.

Um einen Eindruck von der Integrität der Zellen im Bioreaktor zu bekommen, wurden die Bioreaktoren nach Beendigung der Kultur zum Fixieren 30 min. mit 5%igem Paraformaldehyd perfundiert. Anschließend wurde das Polyurethanegehäuse geöffnet und Proben der Kapillaren mitsamt den daran adherenten Zellen genommen. Nach der Einbettung in Paraffin wurden die Proben geschnitten und histologisch mit verschiedenen Markern untersucht. Ein Albuminmarker diente zum Nachweis von Hepatozyten, CK 19 für die Detektion von Gallengangsepithelzellen und CD 31 für Endothelzellen. Um das Gewebe auf potentielle Progenitorzellen zu untersuchen, wurden zusätzlich die Marker c-kit und CD 34 verwendet. Proliferierende Zellen wurden mit Hilfe von Ki-67 markiert, alleine oder in Kombination mit einer CD 31- bzw. CK 19-Färbung. Zusätzlich wurden Proben in Glutaraldehyd fixiert und elektronenmikroskopisch untersucht.

Das *CellModule* ist Teil des Modularen Extrakorporalen Leberunterstützungssystems (MELS). Unter Therapie wird das Plasma des Patienten durch einen Plasmafilter (Hemoselect, B. Braun) von den Blutzellen separiert und dann durch eines der Mediumkapillarbündel durch den Bioreaktor geleitet. Zusätzlich können in den gleichen Kreislauf verschiedene Detoxifikationssysteme integriert werden, zum Beispiel die „Single-Pass Albumin Dialyse“ (SPAD) und die „Continuous Venous Hemodiafiltration“ (CVVHDF). Das System wurde bereits in klinischen Phase-I-Studien mit porcinen und humanen Zellen bei Patienten im Leberversagen eingesetzt.

Ergebnisse:

Für die Studie wurden die Verläufe von 47 Bioreaktorkulturen untersucht. Die biochemischen Analysen ergaben für alle Reaktoren eine deutliche Schwankung der Konzentrationen während der ersten zwei Kulturtage nach Zelleinfüllung. In diesem Zeitraum sind die Enzymlevel und die Konzentrationen von Glucose, Laktat, Ammoniak und Harnstoff stark erhöht. Diese Abweichungen sind hauptsächlich auf Zellschädigung während der Konservierungsperiode und des Zellisolierungsprozesses zurückzuführen. Tote Zellen und Zellschrott werden zusammen mit den lebenden Zellen eingefüllt und innerhalb der ersten 48 Stunden langsam wieder ausgewaschen. Anschließend stabilisieren sich die Konzentrationen auf einem einheitlicheren Niveau und bleiben während der gesamten Kulturdauer im Mittel mehr oder weniger stabil. Anhand einer Korrelationsanalyse wurde die Harnstoffproduktion zwischen den Kulturtagen drei und vierzehn als Trennparameter ausgewählt, ein vorläufiger Schwellenwert festgelegt und anschließend aufgrund dieses Wertes die Bioreaktoren in zwei Gruppen geteilt, die so genannten ‚high performance cultures‘ (Kulturen mit guter Stoffwechsellistung) mit einer Harnstoffproduktion von ≥ 110 mg pro Tag pro Bioreaktor und die ‚low performance cultures‘ (Kulturen mit geringer Stoffwechsellistung) mit weniger als 110 mg Harnstoffproduktion pro Tag. Dabei wurde der Schwellenwert so gewählt, dass in etwa 20% der Bioreaktoren in die Gruppe der potentiell nicht für die Therapie geeigneten Reaktoren fielen. Die separate Betrachtung der beiden Gruppen zeigt eine klare Trennung in allen gemessenen Parametern. Die Gruppe mit der höheren Harnstoffproduktion zeigt eine signifikant höhere Laktat- und Albuminproduktion, eine signifikant geringere Ammoniakproduktion sowie einen signifikant höheren

Galaktose- und Sorbitolabbau. Der Wechsel zur Glukoseaufnahme erfolgt in diesen Kulturen später als bei denen mit niedriger Harnstoffproduktion.

Die Auswertung der Spender- bzw. Isolierungsdaten ergab, dass die Gruppe mit der höheren Stoffwechselleistung eine signifikant kürzere Verdauezeit und eine signifikant höhere eingefüllte Zellmasse aufweisen. Spenderalter, Organgewicht vor Verdau, die kalte Ischämiezeit und die initiale Viabilität der Zellen in Suspension unterschieden sich nicht signifikant.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Gewebeschnitten aus dem Bioreaktor zeigten, dass die Hepatozyten zwischen den Kapillaren eine normale Morphologie aufweisen. Von den Zellen wurden teilweise Strukturen gebildet, die Gallengangskanälen ähneln und mit Microvilli und „tight junctions“ ausgestattet sind. Im parenchymähnlichen Gewebe sind von Endothelzellen eingefasste Hohlräume zu erkennen. Überdies waren die Kapillaren in einigen Bereichen mit Endothelzellen überzogen, welche sich mit Hilfe einer Doppelmarkierung als teilweise Ki-67-positiv und damit teilungsaktiv herausstellten. Andere Zellen, welche die zahlreichen Kanälchen im parenchymähnlichen Gewebe auskleiden und ein einschichtiges Epithel bilden, zeigten sich CK19-positiv. Diese Zellen erwiesen sich in der Doppelfärbung ebenfalls als Ki-67-positiv. An einigen Stellen konnten kleinere Konglomerate von CD34- oder c-kit-positiven Zellen gezeigt werden, die zum Teil von Aggregaten kleinerer Zellen eingefasst werden.

Zur Dokumentation der klinischen Anwendung wurde unter anderem die Fallstudie einer Patientin mit ‚primary graft non-function‘ (PNF) nach Lebertransplantation veröffentlicht. Die 26jährige hatte sich bereits 1990 im Alter von 15 Jahren wegen Leberversagens durch Knollenblätterpilzvergiftung einer Lebertransplantation unterzogen. Nach drei Schwangerschaftsabbrüchen entwickelte sich ein chronisches Leberversagen, so dass die Patientin erneut auf die Warteliste zur Transplantation genommen werden musste. Sie erhielt das Organ einer 68jährigen Spenderin. Aufgrund einer primären Nichtfunktion (PNF) des Transplantats kam es im postoperativen Verlauf zu Defiziten in der Galleproduktion, Coagulopathie, Oliguria und schwerer Enzephalopathie. Die Patientin wies am vierten postoperativen Tag ein Koma Grad IV auf, musste beatmet werden und wurde aufgrund von Nierenversagen zusätzlich dialysiert. Sie wurde zu diesem Zeitpunkt mit höchster Dringlichkeit („high urgency“, HU) zur erneuten Lebertransplantation gemeldet und die MELS-Behandlung mit *CellModule*, SPAD und CVVHDF gestartet. Der zur Therapie

verwendete Bioreaktor enthielt Leberzellen einer 50jährigen Spenderin, deren Organ aufgrund von Steatose nicht zur Transplantation geeignet war. Die kalte Ischämiezeit betrug 13 Stunden. 470 g Zellsuspension mit einer Viabilität von 60% wurden in den Bioreaktor eingefüllt und die Kultur bis zur Therapie 16 Tage im ‚Stand-By‘ gehalten. Während der gesamten Anwendungsdauer von 79 Stunden konnte eine deutliche Senkung der Bilirubin- und Ammoniakkonzentration im Plasma der Patientin beobachtet werden. Der neurologische Status der Patientin besserte sich und der Komagrad reduzierte sich von IV auf I, so dass die Patientin nach 59 Stunden extubiert werden konnte. Die Nierenfunktion setzte am 7. postoperativen Tag wieder ein. Obwohl während der MELS-Behandlung weniger Plasmakonserven gegeben wurden als in den ersten Tagen nach der Transplantation, verbesserte sich der Gerinnungsstatus. Acht Tage nach der Transplantation war ein neues Transplantat verfügbar und die Therapie wurde abgebrochen. Die Patientin wurde 30 Tage nach Retransplantation entlassen und hatte bei Nachuntersuchungen auch nach einem Jahr keine Komplikationen.

Diskussion:

In dieser Arbeit wurde versucht, den *CellModule*-Bioreaktor, welcher zur extrakorporalen Leberunterstützung bei Patienten im Leberversagen entwickelt wurde, unter verschiedenen Gesichtspunkten zu charakterisieren.

Als Zellquelle dienen primäre humane Leberzellen, die im Gegensatz zu porcinen Zellen nicht das Risiko der Übertragung xenogener Viren und im Vergleich zu Tumorzelllinien nicht das Risiko einer Metastasierung im Patienten bergen. Zudem ist eine metabolische Kompatibilität auf jeden Fall gegeben. Da jeder Bioreaktor jedoch mit Zellen aus individuell vorgeschädigten Spenderlebern befüllt wird, ist es notwendig, Kriterien zu finden, die eine Aussage über die Therapietauglichkeit eines einzelnen Bioreaktors erlauben. Idealerweise sollte diese Unterscheidung möglichst früh stattfinden und auf einfach zu bestimmenden Parametern beruhen. Bei der im Artikel „Evaluation of primary human cells in bioreactor cultures for extracorporeal liver support on the basis of urea production“ veröffentlichten Studie wurde der Ansatz verfolgt, der die Kulturen aufgrund ihrer Harnstoffproduktion zu klassifizieren. Anschließend wurde untersucht, ob die Trennung aufgrund dieses Merkmals auf in anderen Parametern wiederzufinden ist. Die statistischen Untersuchungen zeigen, dass eine Unterteilung in zwei Gruppen anhand eines Erfahrungswertes gewählt

Schwellenwertes zu signifikanten Unterschieden in den meisten anderen untersuchten Parametern führte, und durchweg in denen, die ebenfalls als Trennparameter geeignet erscheinen. Zusätzlich wurde untersucht, ob sich auch signifikante Unterschiede in spender- oder isolierungsspezifischen Parametern finden lassen. Ziel der Untersuchung war es, geeignete Parameter vorzuschlagen, die zum Erstellen eines Scoresystems in Frage kommen und möglicherweise eine Einschätzung der Kultur zu einem noch früheren Zeitpunkt erlauben. Die Analyse zeigt, dass sich bei Einteilung in ‚gute‘ und ‚schlechte‘ Kulturen auch die Verdauzeit und die Masse der eingefüllten Zellen signifikant zwischen den Gruppen unterscheiden. Auch die häufig zur Charakterisierung der Funktion von Leberzellen herangezogenen Stoffwechselfparameter Ammoniak, Glaktose/Sorbitol und Albumin unterscheiden sich signifikant in beiden Gruppen und wären ihrerseits geeignet, in ein entsprechendes Scoresystem mit einzufließen.

Die morphologische Untersuchung der Kulturen ist aufgrund der Konstruktionsweise des Bioreaktors erst nach Beendigung der Kultur möglich. Eine Probenentnahme im laufenden Betrieb ist nicht ohne Verletzung der Integrität der Kapillarmembranen durchzuführen. Daher zeigt die morphologische Untersuchung immer nur genau einen Zeitpunkt während der theoretischen Kulturdauer. Die im Artikel „Use of primary human liver cells originating from discarded grafts in a bioreactor for liver support therapy and the prospects of culturing adult liver stem cells in bioreactors: a morphological study“ beschriebenen histologischen Untersuchungen zeigen, dass auch nach mehreren Wochen neben nekrotischen Arealen noch intakte parenchymähnliche Bereiche im Reaktor zu finden sind. Von CD31- und Ki-67-positiven, flachen Zellen ausgekleidete Hohlräume lassen auf Reorganisation zu gefäßähnlichen Strukturen schließen. Ähnliche Gebilde, die von CK 19- und Ki-67-positiven Zellen gesäumt waren, deuteten auf gallengangähnliche Formationen hin. Es konnten außerdem CD34- und c-kit-positive Zellen gezeigt werden, die sowohl im Gewebe der Spenderleber als auch im Bioreaktor auftraten. Möglicherweise handelt es sich hierbei um adulte Leberstammzellen, die an der Regeneration der geschädigten Leber beteiligt sind. Obwohl die Zellen häufig aus wegen Steatose abgelehnten Organen stammten, waren selten Zellen mit einem hohen Verfettungsgrad anzutreffen. Teilweise ist dies sicherlich durch die Waschschriffe nach der Zellioslierung zu erklären, bei denen sehr fette Zellen im Überstand verbleiben und verworfen werden. Andererseits scheint eine gewisse Regeneration

der Zellen in Kultur einzutreten. Zusammenfassend ergeben die morphologischen Untersuchungen, dass es möglich ist, primäre humane Leberzellen in entsprechenden dreidimensionalen Kultursystemen über einen Zeitraum von mehreren Wochen zumindest in einigen Arealen vital zu erhalten, während in klassischen Monolayerkulturen nach einer Woche bis zehn Tagen mikroskopisch durchgehend eine deutliche Degeneration der Zellen zu sehen ist.

Die tatsächliche Leistung einer Leberzellkultur während der Therapie einzuschätzen ist bei weitem am schwierigsten, da hierbei nicht nur der schwer voraussagbare Verlauf des individuellen Leberversagens eine Rolle spielt, sondern auch die Differenzierung zwischen der Wirkung der artifiziellen Entgiftungssystemen (SPAD, CVVHDF) und dem Beitrag der Leberzellen nahezu unmöglich ist. Das MELIS-Konzept sieht die primäre Rolle der Zellen im *CellModule* in der Übernahme von regulatorischen und synthetischen Funktionen. Die Entgiftung kann in den meisten Fällen effizienter durch die zugeschalteten artifiziellen Komponenten übernommen werden. Der hier vorgestellte Fall ist Teil einer Phase-I-Studie, in der die Unbedenklichkeit der Anwendung im Sinne von ausbleibenden Nebenwirkungen nachgewiesen werden konnte. Die Patientin erholte sich unter Therapieverlauf zusehends, klarte weitgehend auf, ihre Nierenfunktion setzte wieder ein und die meisten klinischen Parameter verbesserten sich zusehends. Insgesamt erscheint das Konzept der Kombination artifizieller und bioartifizieller Systeme zur Therapie im Leberversagen ein viel versprechender Ansatz, um Patienten im Leberversagen bis zur Transplantation zu überbrücken oder sogar im Idealfall die Regeneration der eigenen Leber zu unterstützen.

Um eine definitive Aussage über den therapeutischen Nutzen der Anwendung treffen zu können, wäre eine groß angelegte multizentrische Phase-II-Studie notwendig, da für eine statistisch relevante Aussage bei einer derartig großen Varianz große Fallzahlen notwendig sind. Um solche Studien durchführen zu können, muss zunächst eine alternative Zellquelle oder eine Methode zur Verlängerung der Kulturdauer gefunden werden, da weder die Zahl der verfügbaren Organe noch die notwendige Logistik der Isolierung und Bioreaktorbefüllung derzeit eine solche Studie zulassen.

Pless G, Steffen I; Zeilinger K, Sauer IM, Katzen E, Kehr DC, Roth S, Mieder T, Schwartlander R, Müller C, Wegner B, Hout MS, Gerlach JC

Evaluation of primary human liver cells in bioreactor cultures for extracorporeal liver support on the basis of urea production

Artif Organs. 2006 Sep;30(9):686-94.

Gerlach JC, Mutig K, Sauer IM, Schrade P, Efimova E, Mieder T, Naumann G, Grunwald A, Pless G, Mas A, Bachmann S, Neuhaus P, Zeilinger K.

Use of primary human liver cells originating from discarded grafts in a bioreactor for liver support therapy and the prospects of culturing adult liver stem cells in bioreactors: a morphologic study.

Transplantation. 2003 Sep 15;76(5):781-6.

Sauer IM, Zeilinger K, Pless G, Kardassis D, Theruvath T, Pascher A, Goetz M, Neuhaus P, Gerlach JC

Extracorporeal Liver Support based on Primary Human Liver Cells and Albumin Dialysis – Treatment of a Patient with Primary Graft Non-Function

Journal of Hepatology; 2003, 39 (4): 649 – 653.

Erklärung

„Ich, Gesine Pleß, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Nutzung nicht transplantabler humaner Spenderlebern als Zellquelle für extrakorporale Leberunterstützungssysteme“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift