

Aus der Chirurgischen Klinik,
Campus Charité Mitte | Campus Virchow-Klinikum
der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Etablierung und Evaluierung eines Systems zur *ex vivo*
Maschinenperfusion der Rattenleber unter Berücksichtigung
von Steatosis hepatis in der Spenderpopulation

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Maximilian Nösser

aus Bonn

Datum der Promotion: 17. September 2021

Inhaltsverzeichnis

1. Abstract	3
2. Einleitung	5
3. Methodik	6
3.1 Tierexperimenteller Teil	6
3.1.1 Entwicklung der Perfusionssystems	6
3.1.2 Versuchstiere und Organentnahme	8
3.1.3 Betrieb des Perfusionssystems	9
3.2 Klinischer Teil	9
3.3 Statistische Auswertung	10
4. Ergebnisse	10
4.1 Tierexperimenteller Teil	10
4.1.1 Perfusionsparameter und laborchemische Ergebnisse	10
4.1.2 Histologie	12
4.2 Klinischer Teil	13
5. Diskussion	14
6. Literaturverzeichnis	17
7. Eidesstattlicher Versicherung	22
7.1 Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen	23
8. Ausgewählte Publikationen	25
9. Lebenslauf	57
10. Komplette Publikationsliste	58
11. Danksagung	60

1. Abstract

Hintergrund: Die Lebertransplantation stellt derzeit die einzige kurative Therapieoption für Patient*innen mit terminaler Leberfunktionsstörung dar, wobei die Verfügbarkeit dieses Behandlungskonzepts aufgrund des ausgeprägten Organmangel limitiert ist. Zur Überwindung des bestehenden Organmangels werden zunehmend Lebertransplantate von Spendern mit erweiterten Kriterien akzeptiert, welche mit erhöhten Raten der primären Nichtfunktion und frühen Dysfunktion assoziiert sind. Die *ex vivo* Leber-Maschinenperfusion ist ein Verfahren, welche die Rekonditionierung solcher Organe mit Qualitätseinschränkungen ermöglichen soll, um somit das Outcome nach Lebertransplantation zu verbessern. In dieser Arbeit erfolgte die Etablierung und Evaluation eines Kleintiermodelles zur *ex vivo* Leber-Maschinenperfusion unter verschiedenen Temperaturbedingungen. Weiterhin wurden klinische Daten zur Akzeptanz von steatotischen Lebertransplantaten am Transplantationszentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin ausgewertet, welche einen bedeutsamen Anteil an der Spenderpopulation mit verminderter Organqualität darstellen und potentiell reversibel sind.

Methoden: Im Rahmen des experimentellen Teils erfolgte die Etablierung und Evaluierung eines Systems zur *ex vivo* Maschinenperfusion der Rattenleber für subnormotherme und normotherme Konditionen. Ein präliminäres System bestehend aus einer Rollerpumpe und einem Oxygenator wurde – unter Hinzunahme von autologen Rattenerthrozyten als Sauerstoffträger und einer Dialyseeinheit – schrittweise optimiert und mit Lebertransplantaten entnommen nach Herztod evaluiert. Im klinischen Anteil erfolgte eine retrospektive Datenanalyse zur Akzeptanz und Ablehnung von Lebertransplantaten zwischen 2010 und 2016 an der Charité – Universitätsmedizin Berlin unter Betrachtung von Steatosis hepatis in der Spenderpopulation.

Ergebnisse: Die normotherme Perfusion von Rattenlebern führte im Vergleich zur subnormothermen Perfusion zur erhöhten Freisetzung der Alanin-Aminotransferase in das Perfusat. Über die Perfusionszeit kam es zu ansteigenden Kaliumkonzentrationen im Perfusat, welche durch Erweiterung des Perfusionssystem um einen Dialyseeinheit reduziert werden konnten. Die Miniaturisierung des Perfusionssystem führte zur Reduktion der benötigten Menge an Rattenerthrozyten. Im Modell der Organspende nach Herztod konnte gezeigt werden, dass die Perfusion mit Dialyseeinheit zu einem geringeren Organschaden führt.

Zwischen 2010 und 2016 wurden dem Transplantationszentrum 2653 Lebertransplantate angeboten, von denen 527 (19,9%) akzeptiert und transplantiert werden konnten. Während die Anzahl der Angebote zunahm (2010: 208; 2016: 536), sank die Akzeptanz der Transplantate signifikant (2010: 32,9%; 2016: 10,9%; $p < 0,001$). Gleichzeitig stieg die Prävalenz der Steatosis hepatis im angebotenen Kollektiv signifikant an (2013: 24,0%; 2016: 34,7%; $p < 0,007$).

Diskussion: Die Steatosis hepatis stellt einen relevanten Faktor für die Verfügbarkeit von Organen für die Lebertransplantation dar. Ein Kleintiermodell zu *ex vivo* Maschinenperfusion der Leber ist essentiell für die Entwicklung von Strategien zur Rekonditionierung steatotischer Lebertransplantate. Durch die Optimierung der Organqualität mittels Maschinenperfusion könnte künftig das Outcome nach Transplantation steatotischer Lebertransplantate verbessert werden.

Background: Liver transplantation is the gold standard treatment of patients with end-stage liver disease. The availability of liver transplantation is limited due to severe organ shortage. To overcome this shortage, organs with impaired quality are accepted, which are associated with increased rates of primary organ non-function or early allograft dysfunction. *Ex vivo* machine perfusion has been proposed for re-conditioning of organs with reduced quality to improve the outcome after liver transplantation. Object of this study was to establish and evaluate a model for *ex vivo* rat liver machine perfusion and to analyze clinical data regarding acceptance of liver grafts with impaired quality which were offered to the transplantation center of the Charité – Universitätsmedizin Berlin, with the main focus on steatosis hepatis.

Methods: In the experimental part a model of the *ex vivo* machine perfusion of the rat liver under subnormothermic and normothermic temperature conditions was established. A system consisting of a roller pump and an oxygenator was improved step-by-step by adding autologous erythrocytes and by integrating a dialyzing unit. The system was evaluated using rat liver grafts from donation after cardiac death. In the clinical part a retrospective analysis of liver grafts offered to the Charité – Universitätsmedizin Berlin from 2010 to 2016 was performed regrading steatosis hepatis in the donor pool.

Results: Normothermic perfusion of the rat liver unlike subnormothermic conditions led to elevated release of alanine-aminotransferase into the perfusate. Potassium concentrations increased over the perfusion time which was reduced by adding a dialyzing unit to the perfusion system. Miniaturization of the perfusion system led to reduced expenditure of autologous rat erythrocytes. Perfusion with dialysis decreased the damage of the liver grafts in the model of donation after cardiac death.

Between 2010 and 2016 out of 2653 liver grafts offered to our transplantation center 527 (19.9%) were transplanted. While the number of offers increased (2010: 208; 2016: 536), the rate of acceptance decreased (2010: 32.9%; 2016: 10.9%; $p < 0.001$). In the same time the prevalence of steatosis hepatis increased in the analyzed group (2013: 24.0%; 2016: 34.7%; $p < 0.007$).

Discussion: Steatosis hepatis is a critical issue for the availability of liver transplantation. A small animal model for *ex vivo* liver machine perfusion is essential to establish for strategies for the re-conditioning of steatotic liver grafts. Through the improvement of the organ quality employing *ex vivo* liver machine perfusion the outcome of liver transplantation could be optimized in the future.

2. Einleitung

Die Lebertransplantation stellt die einzige kurative Therapieoption für Patienten mit terminalem Leberversagen dar. Die größte Herausforderung im Bereich der Lebertransplantation bleibt die Diskrepanz zwischen verfügbaren Transplantaten und der Zahl der Patienten auf der Warteliste. Bei einer Gesamtanzahl von 1872 Patienten auf der Warteliste wurden im Jahr 2018 in Deutschland 877 Lebern transplantiert (46,8%), 288 Patienten (15,4%) verstarben auf der Warteliste¹. Seit 2009 ist die Anzahl der realisierten Transplantation deutlich zurückgegangen, was unter anderem mit reduzierter Spendebereitschaft und strukturellen Problemen der Organspende zusammenhängt¹⁻³. Zur Überwindung der Organknappheit werden zunehmend sogenannte marginale Organe von Spendern mit erweiterten Spenderkriterien (*extended criteria donors - ECD*) für die Lebertransplantationen genutzt. Als solches werden durch die Richtlinien zur Organtransplantation der Bundesärztekammer jene Organe klassifiziert, die Einschränkungen in der Vermittlungsfähigkeit eines Spenderorgans implizieren, unter anderem ein Spenderalter ≥ 65 Jahre, Adipositas (Body-Mass-Index >30 kg/m²) und eine histologisch gesicherte Steatosis hepatis oder ein Fettanteil $>40\%$ ⁴. Die Steatosis hepatis und ein zunehmendes Spenderalter stellen in Kombination mit verlängerten kalten Ischämiezeiten relevante Risikofaktoren für die primäre Transplantat-Nichtfunktion sowie für die frühe Transplantat-Dysfunktion dar, da diese häufig zu einem verstärkten Ischämie-Reperfusionsschaden führt⁵⁻⁸.

Eine vielversprechende Alternative zur Standardkonservierung – der Lagerung des Organs in Konservierungslösung auf Eis – stellt die *ex vivo* Maschinenperfusion von insbesondere marginalen Lebertransplantaten dar. In den ersten klinischen Studien wurde bereits gezeigt, dass die Methode technisch durchführbar und sicher ist und nicht zum Verlust eines Organs durch technisches Versagen der Methode führte^{9,10}.

Für die klinische Anwendung werden derzeit verschiedene Konzepte untersucht, welche zunächst anhand der Perfusionstemperatur eingeteilt werden können: Während bei der hypothermen Maschinenperfusion (*Hypothermic Oxygenated PERfusion* (HOPE), 4-10° C) der Metabolismus des Transplantats während der Perfusionsphase reduziert werden soll, um die intrazellulären Energiereserven des Parenchyms aufzufüllen und erhalten¹¹⁻¹³, wird bei der normothermen Perfusion (37° C) der Metabolismus aufrechterhalten, was der Evaluierung der Organfunktion unter annähernd physiologischen Bedingungen sowie einer möglichen Behandlung des Transplantates durch pharmakologische Interventionen dient¹⁴⁻¹⁷. Ein weiterer Unterschied zur Lagerung auf Eis ist die Oxygenierung der Perfusionslösung sowie die kontinuierliche Entfernung von Metaboliten aus dem Transplantat, die bei der statischen Lagerung über die Zeit akkumulieren können. Weitere Ansätze stellen die subnormotherme Perfusion (21° C) sowie Kombinationen der unterschiedlichen Verfahren dar^{18,19}.

In der ersten prospektiv-randomisierten Studie zur normothermen Maschineperfusion von Lebertransplantaten zeigte sich eine Reduktion der frühen Transplantat-Dysfunktion um 74% im Vergleich zur ausschließlich kalten Konservierung²⁰. Eine randomisierte klinische Studie zum Vergleich hypothermer und normothermer Maschinenperfusion gibt es bisher nicht. Es verbleibt derzeit unklar, mit welchem Perfusionskonzept insbesondere marginale Organe perfundiert werden sollten, um das Outcome nach Lebertransplantation zu verbessern, ein Effekt auf die Steatosis hepatis des Spenderorgans wurde bereits beschrieben²¹⁻²⁵. Anders als die klinische Situation ist für Kleintierversuche kein standardisiertes Perfusionsmodell beschrieben. Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung eines reproduzierbaren Systems zur portalvenösen *ex vivo* Lebermaschinenperfusion im Rattenmodell für unterschiedliche Temperaturkonditionen. Zur Evaluation eines möglichen Anwendungsgebietes der *ex vivo* Maschinenperfusion im Bereich marginaler Lebertransplantate wurden Zentrumsdaten zum Outcome von Lebertransplantationen in Bezug auf die Prävalenz der Steatosis hepatis im Transplantat an der Charité – Universitätsmedizin Berlin ausgewertet.

3. Methodik

3.1 Tierexperimenteller Teil

3.1.1 Entwicklung des Perfusionssystems

Die Entwicklung und Evaluierung des Perfusionssystem erfolgte in sechs Zwischenschritten (Gruppen A-F, jeweils n=4. **Tabelle 1, Abb. 1**). Bei sequentiellem Vorgehen bei der Entwicklung des Perfusionssystems stellt jede Versuchsgruppe die Optimierung des vorherigen Systems dar.

Versuchsgruppe	A	B		C		D		E		F	
Untergruppe		B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2	F1	F2
Perfusatvolumen (ml)	250	80		100		50					
Perfusionsdauer (h)	6	12		12		6					
Temperatur (° C)	21	21	37	21	37	37					
Erythrozyten im Perfusat	Nein	Ja									
Dialyse	Nein			Ja		Nein	Ja	Nein	Ja	Nein	Ja
Glycin-Intervention	Nein							Ja	Ja	Nein	Ja
Warme Ischämie	Nein									30 Minuten	
Probenentnahme	BGA ¹ / Perfusat: stündlich Galle: 0-6h	BGA ¹ / Perfusat: alle 3 Stunden Galle: 0-3h, 3-6h, 6-9h, 9-12h				BGA ¹ / Perfusat: alle 3 Stunden Galle: stündlich					

Tabelle 1: Übersicht der Versuchsgruppen Modifiziert nach Nösser et al.²⁶ sowie Gaßner et al.²⁷
¹ BGA = Blut-Gas-Analyse

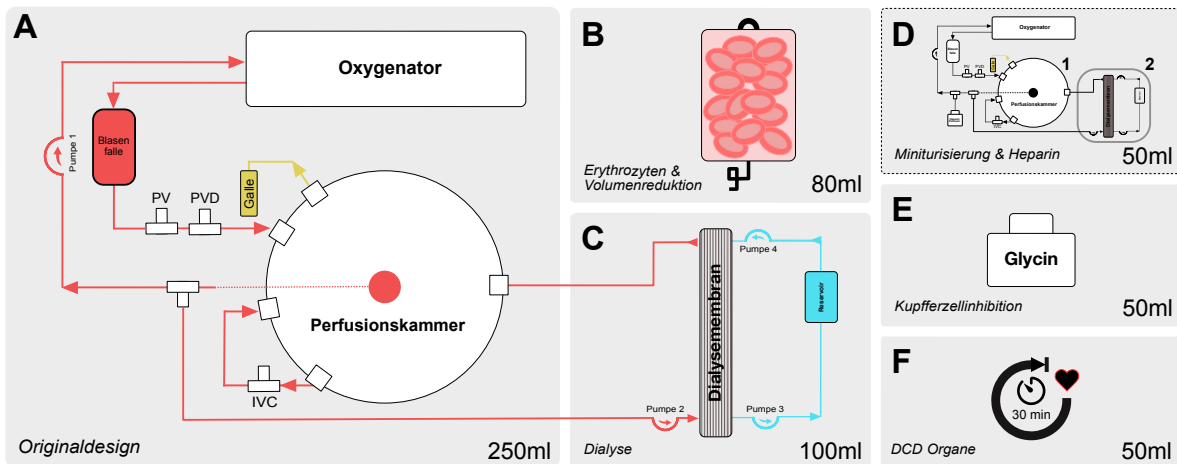


Abbildung 1: Skizze des Perfusionskreislaufes (A) mit 250ml Perfusat (PV = Pfortader-Probenentnahme; PVD = Pfortader-Druckmesser; IVC = Abfluss über die infra-hepatische Vena cava), (B) Supplementierung von autologen Erythrozyten und Reduktion des Volumens, (C) Hinzunahme einer Dialyse-Einheit, (D) Finales, miniaturisiertes Perfusionssystem mit kontinuierlicher Heparinisierung, 1 = ohne Dialyse, 2 = mit Dialyse, (E) Pharmakologische Intervention mit Glycin, (F) Perfusion von marginalen Organen mittels DCD (Donation after cardiac death – Organspende nach Herztod) Modells. Modifiziert nach Nösser et al.²⁶ sowie Gaßner et al.²⁷.

Eine Perfusionskammer wurde aus Glas angefertigt (Gaßner Glastechnik, München). In der Perfusionskammer wurde die Leber liegend gelagert. Über Durchtrittsstellen der Wand der Perfusionskammer wurde die Leber mit den übrigen Teilen des Perufusionskreislaufs verbunden (**Abb. 2B**).

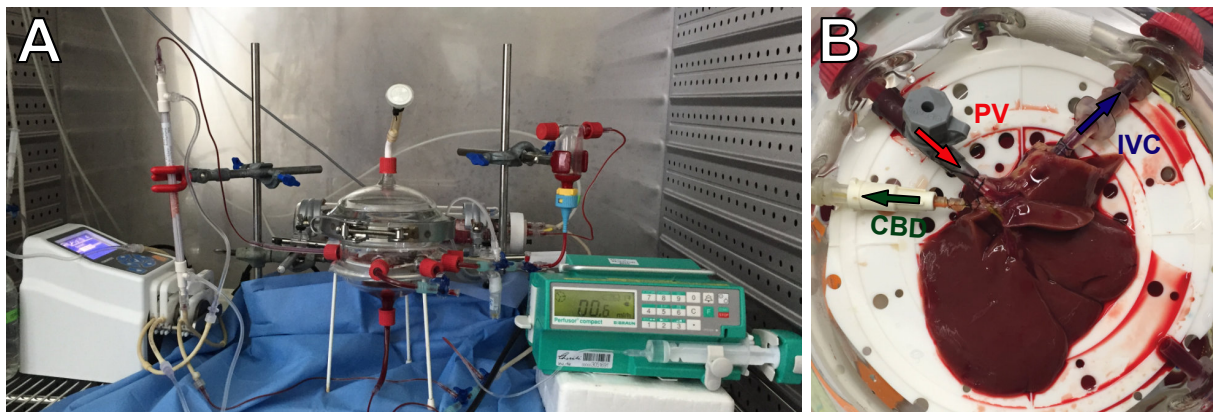


Abbildung 2: (A) Übersicht des sich in Betrieb befindenden Perfusionsystems, (B) Rattenleber während der Perfusion, Kennzeichnung der jeweiligen Flussrichtung durch Pfeile (CBD = common bile duct; PV = Pfortader; IVC = infra-hepatische Vena cava).

Ein Oxygenator sowie eine Blasenfalle wurden in Reihe geschaltet. Die Perfusion erfolgte über die Pfortader (Portalvene, PV), der Ausfluss des Perfusats aus der Leber wurde über die infra-hepatische Vena cava (IVC) in das Reservoir der Perfusionskammer rezirkuliert. Ab Versuchsgruppe C wurde das Perfusionssystem um einen parallel geschalteten, rezirkulierenden Dialyse-Kreislauf erweitert (**Abb. 1C**). Als Antrieb des Perfusionssystems

dienten zwei Rollerpumpen. Zur Verbindung der einzelnen Komponenten des Perfusionssystems wurden Heidelberger Verlängerungsschläuche sowie Drei-Wege-Hähne verwendet (B. Braun Melsungen, Melsungen).

Als Perfusat wurde *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM; Biochrom, Berlin) verwendet. 500 ml DMEM wurden mit Penicillin und Streptomycin (100 mg/dl, Biochrom), L-Glutamin/ L-Alanin (4 mMolar, Biochrom), Humaninsulin (1 mMolar, Lilly, Bad Homburg), Glucagon (14 ng/ml; Novo Nordisk, Mainz) und Dexamethason (1 mMolar) supplementiert. Ab Gruppe B wurden Rattenstamm-spezifische Erythrozyten aus frisch gewonnenem, zentrifugiertem Vollblut (15 Minuten, 3200 Umdrehungen pro Minute, 4° C) zum Perfusat hinzugefügt. Zum heparinisierten Perfusat (500 IE) wurde frisch gewonnenes Rattenplasma hinzugefügt, sodass das Plasma 10% (Gruppe B-C) bzw. 25% (Gruppe D-F) des Gesamtvolumens darstellte. Für Gruppe E und F wurden entsprechend 12 mmol Glycin zum Perfusat und Dialysat sowie zur Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat-Lösung (HTK-Lösung, Custodiol, Dr. Franz Köhler Chemie, Bensheim) hinzugefügt.

3.1.2 Versuchstiere und Organentnahme

Alle Versuche erfolgten nach Genehmigung vom Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin (LaGeSo Berlin; O0264/13, O0365/11, T301/17). Insgesamt wurden 44 männliche Wistar Ratten mit einem Gewicht von 255 bis 720 g von der Forschungseinrichtung für Experimentelle Medizin (FEM) der Charité – Universitätsmedizin Berlin sowie von Janvier (Le Genest-Saint-Isle, Frankreich) erworben und unter Standardbedingungen für die Versuchstierkunde in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité – Universitätsmedizin Berlin am Campus Virchow Klinikum gehalten.

Die Organentnahme erfolgte in finaler Narkose mit inhalativem Isofluran sowie subkutaner Injektion von Metamizol (100 mg/kg Tiergewicht) und Ketamin (12 mg/kg Tiergewicht) unter dem Mikroskop. Nach Heparinisierung (500 IE) über die IVC und Entnahme von Frischblut für den Perfusionsversuch erfolgte die Induktion der kalten Ischämie mittels 20 ml eiskalter HTK-Lösung über die Aorta abdominalis. Es folgte die Kanülierung von Gallengang (*Common bile duct* – CBD), PV sowie IVC. Bis zur Verbindung mit dem Perfusionssystem erfolgte die Lagerung der Leber in HTK auf Eis. In der Versuchsgruppe F erfolgte als Modell für ein marginales Lebertransplantat die Induktion des Herztodes nach Schlegel²⁸ durch Isofluran-Narkose. Nach dem Atemstillstand erfolgte eine suprapubische Inzision zur Blutentnahme sowie eine 30-minütige Wartezeit vor Organentnahme.

3.1.3 Betrieb des Perfusionssystems

Die Leber wurde mit dem Hilum oben liegend in der Perfusionskammer platziert. Konsekutiv wurden PV, IVC und CBD mit dem Perfusionssystem bei einem Pumpenfluss im Primärkreislauf von 1 ml/min verbunden (**Abb. 2B**). Die Perfusion erfolgte bei einer Perfusionstemperatur von 21° (subnormotherm) oder 37° C (normotherm) in einem Inkubationsschrank (Binder, Tuttlingen). Die Oxygenierung des Perfusats erfolgte mit einem Gasgemisch aus 95% Sauerstoff und 5% Kohlenstoffdioxid.

Die Perfusion erfolgte Fluss-gesteuert bei 1 ml/ g Lebergewicht/ min. Die Perfusionsdauer lag bei 6 (Gruppe A, D-F) beziehungsweise 12 Stunden (Gruppe B, C). Die Flussgeschwindigkeit der Perfusat-Seite im Dialyse-Kreislauf betrug 10 ml/min sowie 10 ml/min auf der Dialysat-Seite. Als Dialysat (500ml) wurde – analog zum Perfusat – DMEM (Gruppe C) sowie Kalium-armes *CiCa K2* (Fresenius Kabi, Bad Homburg; Gruppe D-F) verwendet. In Gruppe C wurde nach 6 Stunden Perfusion frisches Dialysat verwendet.

In Versuchsgruppe D wurden 500 IE pro Stunde über eine Spritzen-Pumpe (Perfusor, B. Braun, Melsungen) kontinuierlich appliziert. In Versuchsgruppe E und F wurden entsprechend 45mg Glycin pro Stunde über die Spritzenpumpe kontinuierlich appliziert.

Die Bestimmung der Alanin-Aminotransferase (ALAT) aus dem Perfusat erfolgte im Zentrallabor (*Labor Berlin - Charité Vivantes GmbH, Berlin*), Blut-Gas-Analysen (BGA) wurden mittels einer *ABL 800 Flex* BGA-Maschine (Radiometer, Krefeld) analysiert. Die Galleproduktion wurde gravimetrisch bestimmt. 5 Segmente jeder Leber wurden im Anschluss an die Perfusion in Paraffin eingebettet. Gewebeschnitte (2-5 µm) wurden mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung behandelt und zusammen mit einem Facharzt für Pathologie qualitativ bewertet.

3.2 Klinischer Teil

Es erfolgte die retrospektive Analyse von klinischen Daten aus dem Transplantationszentrum der Chirurgischen Klinik, Campus Charité Mitte|Campus Virchow Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin²⁹. Ein Einverständnis der Ethikkommission der Charité lag vor (EA2/010/17).

Alle Lebertransplantate, die dem Transplantationszentrum zwischen 2010 und 2016 von *Eurotransplant* (Leiden, Niederlande) von Organspendern nach Hirntod angeboten wurden, wurden ausgewertet. Die eingeschlossenen Daten enthielten allgemeine Informationen über den Spender (Alter, den Body-Mass-Index (BMI), Laborparameter, Ursache des Hirntods, Reanimation, anamnestiche Daten), die dem Spenderbericht zu entnehmen waren sowie die kalte Ischämiezeit. Die Entscheidung über Akzeptanz oder Nicht-Akzeptanz eines

Transplantats wurde individuell durch den transplantierenden Chirurgen getroffen, die jeweiligen Gründe wurden erfasst.

Informationen über das Vorliegen einer Steatosis hepatis wurden entweder als jedwede Beschreibung von Steatosis hepatis (abdominellen Sonographie oder histopathologischer Bericht) oder als die histopathologische Bestätigung in Grade unterteilt erfasst, wie in der Literatur beschrieben^{30,31} (Makrovesikuläre Steatose <5% „keine Steatose“, 5-30% „milde Steatose“, 30-60% „moderate Steatose“, >60% „schwere Steatose“).

Das 1-Jahres-Transplantat-Überleben (Abwesenheit von Tod des Empfängers und keine Re-Transplantation), 1-Jahres-Patienten-Überleben sowie das Vorliegen einer frühen Transplantat-Dysfunktion (Laborparameter Bilirubin >10 mg/dl oder INR >1,6 am siebten postoperativen Tag sowie Transaminase (ASAT/ALAT) >2000 U/l innerhalb der ersten sieben postoperativen Tage³²) wurde für alle Patienten ermittelt.

3.3 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde mittels IBM SPSS for Macintosh Version 24.0 (IBM Corp., Armonk, USA) berechnet, und die Grafiken mit GraphPad Prism Version 6.04 für Macintosh (GraphPad Software, LaJolla, USA) erstellt. Die Daten werden präsentiert als Mittelwert \pm Standardabweichung für normalverteilte Daten sowie als Median und Interquartilsabstand für nicht normalverteilte Daten. Kategoriale Variablen wurden in Proportionen und Anzahl gemessen und mit dem Chi-Quadrat-Test analysiert. Nach der Testung auf Normalverteilung wurden kontinuierliche Parameter mit dem Student's T-Test und nichtparametrische Variablen mit dem Wilcoxon Rangsummentest analysiert. Gruppenvariablen wurden mit einer Varianzanalyse (one-way und two-way ANOVA) oder dem Kruskal-Wallis-Test gemäß der Normalverteilung analysiert.

4. Ergebnisse

4.1 Experimenteller Teil

4.1.1 Perfusionsparameter und laborchemische Ergebnisse

Das Lebergewicht aller 44 perfundierten Rattenleber betrug durchschnittlich $13,9 \pm 2,4$ g. Die Zeit von kalter Perfusion bis zur Reperfusion im Perfusionssystem betrug durchschnittlich $70,7 \pm 24,3$ min. Der portalvenöse Perfusionsdruck lag in allen Gruppen über die Perfusionszeit von 6 Stunden bei weniger als 10 mmHg. Autologe Rattenerythrozyten wurden in der Menge so supplementiert, dass ein Hämatokrit von 6,7% (Gruppe B), 13,6% (Gruppe C) und 20% (Gruppe D-F) erreicht wurde.

Die durch die Alanin-Aminotransferase (**Abb. 3A**) gemessene laborchemische Schädigung des Leberparenchyms zeigte sich nach 6 Stunden Perfusion als am Stärksten ausgeprägt unter normothermen Perfusionsbedingungen ohne Dialyse (B2: 2860,0 U/l IQR 2864,0), wobei die

laborchemische gemessenen Schädigungsparameter unter subnormothermen Bedingungen deutlich niedriger lagen (B1: 86,5 IQR 238,8; $p < 0,001$). Unter normothermen Bedingungen wurden in der Gruppe mit Dialyse nach 6 Stunden eine nicht signifikant geringere Transaminasenfreisetzung in das Perfusat gemessen (C2: 1575,0 IQR 229,0; $p = 0,41$), im optimierten Perfusionssystem zeigt sich jedoch mit Dialyse signifikant weniger Transaminasenfreisetzung im Perfusat (D2: 298,5 IQR 1350,5; $p = 0,002$), ebenso wie in der Intervention mit Glycin (E2: 221,0 IQR 129,5; $p < 0,0001$) sowie nach Organentnahme nach Herztod (F2: 541,5 IQR 172,0; $p < 0,001$).

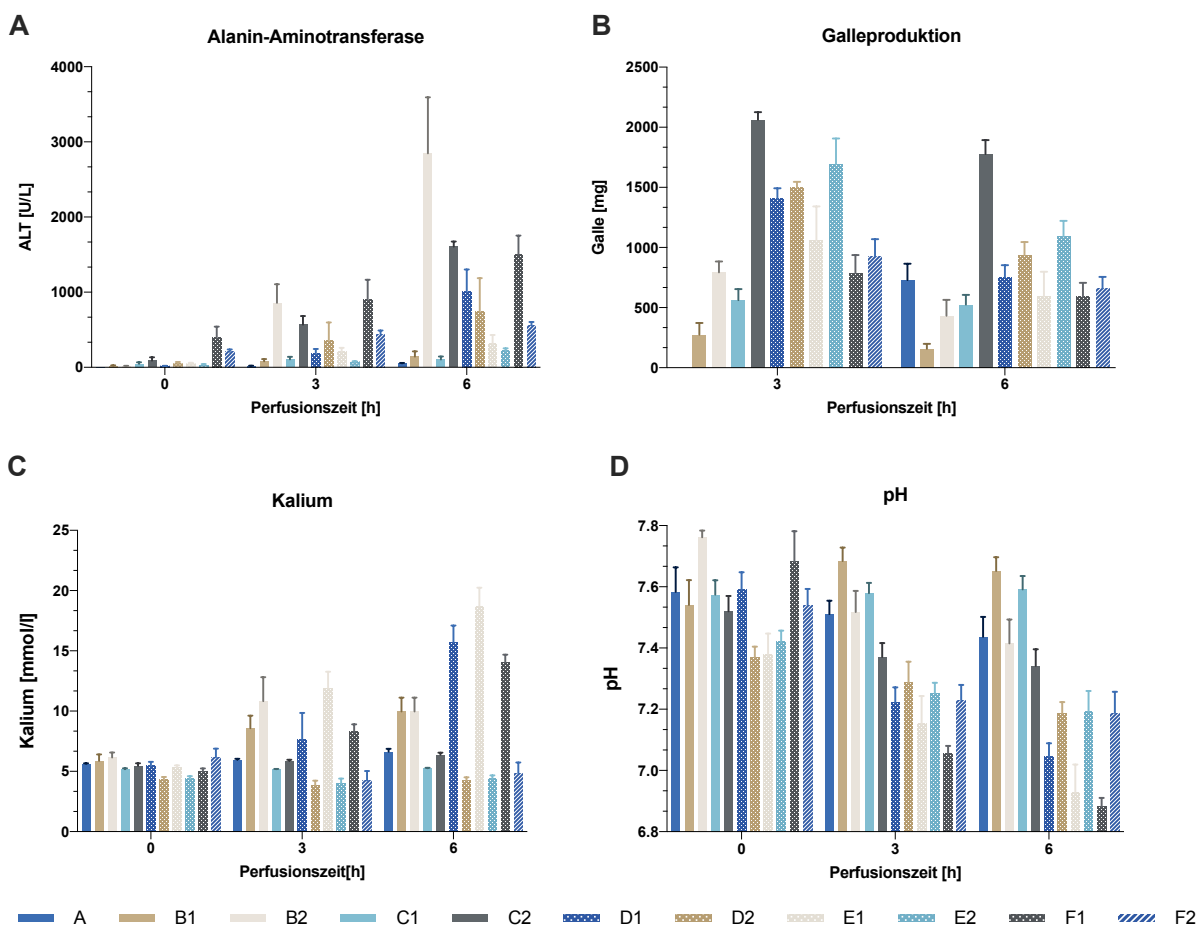


Abbildung 3: Laborchemische Parameter im Perfusat über die Zeit der Perfusion (A) Konzentration der Alanin-Aminotransferase (ALAT) im Perfusat über die Perfusionszeit, (B) Galleproduktion über die Perfusionszeit (C) Kalium-Konzentration im Perfusat über die Perfusionszeit (D) pH-Wert über die Perfusionszeit. Gruppenbezeichnung durch Buchstaben und Ziffern analog zur Tabelle 1.

Modifiziert aus Nösser et al.²⁶ und Gaßner et al.²⁷.

Unter subnormothermen Temperaturbedingungen ohne Erythrozyten (Gruppe A) kam es kumuliert über die Perfusionszeit zu einer Galleproduktion von 788 mg (IQR 509,7) nach 6 Stunden (**Abb. 3B**). Normotherm perfundierte Lebern produzierten nach 6 Stunden nicht signifikant mehr Galle als subnormotherm perfundierte Lebern (B2: 839,0 mg IQR 337,8 vs. B1: 315,5 mg IQR 360,5; $p = 0,89$), jedoch gab es mit zusätzlichem Dialysekreislauf im

Perfusionssystem nach 6 Stunden Perfusion signifikant mehr Galleproduktion unter normothermen Perfusionsbedingungen (C2: 2032,0 mg IQR 235,0 vs. B2: 839,0 mg IQR 337,8, $p < 0,01$). Im optimierten Perfusionssystem (Gruppe D-F) bei ausschließlich normothermen Bedingungen gab es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

Durch die Erweiterung des Perfusionssystem durch einen Dialysekreislauf konnten die Kaliumwerte (**Abb. 3C**) nach 6 Stunden Perfusionszeit auf annähernd physiologische Werte gesenkt werden (C1: 5,3 mmol/l IQR 0,15 vs. B1: 10,9 mmol/l IQR 3,8; $p = 0,18$; C2: 6,2 mmol/l IQR 0,5 vs. B2: 12,0 mmol/l IQR 7,5; $p = 0,49$). Durch die Verwendung der Kalium-armen Dialyseflüssigkeit ab Gruppe D konnten die Kaliumwerte nach 6 Stunden im Vergleich zum jeweiligen Aufbau ohne Dialyse signifikant auf physiologische Werte verringert werden (D1: 16,2 mmol/l IQR 5,1 vs. D2: 4,3 mmol/l IQR 0,9; $p = 0,03$; E1: 18,3 mmol/l IQR 6,0 vs. E2: 4,5 mmol/l IQR 1,0; $p = 0,02$; F1: 14,0 mmol/l IQR 2,5 vs. F2 4,1 mmol/l IQR 3,1; $p = 0,005$).

4.1.2 Histologie

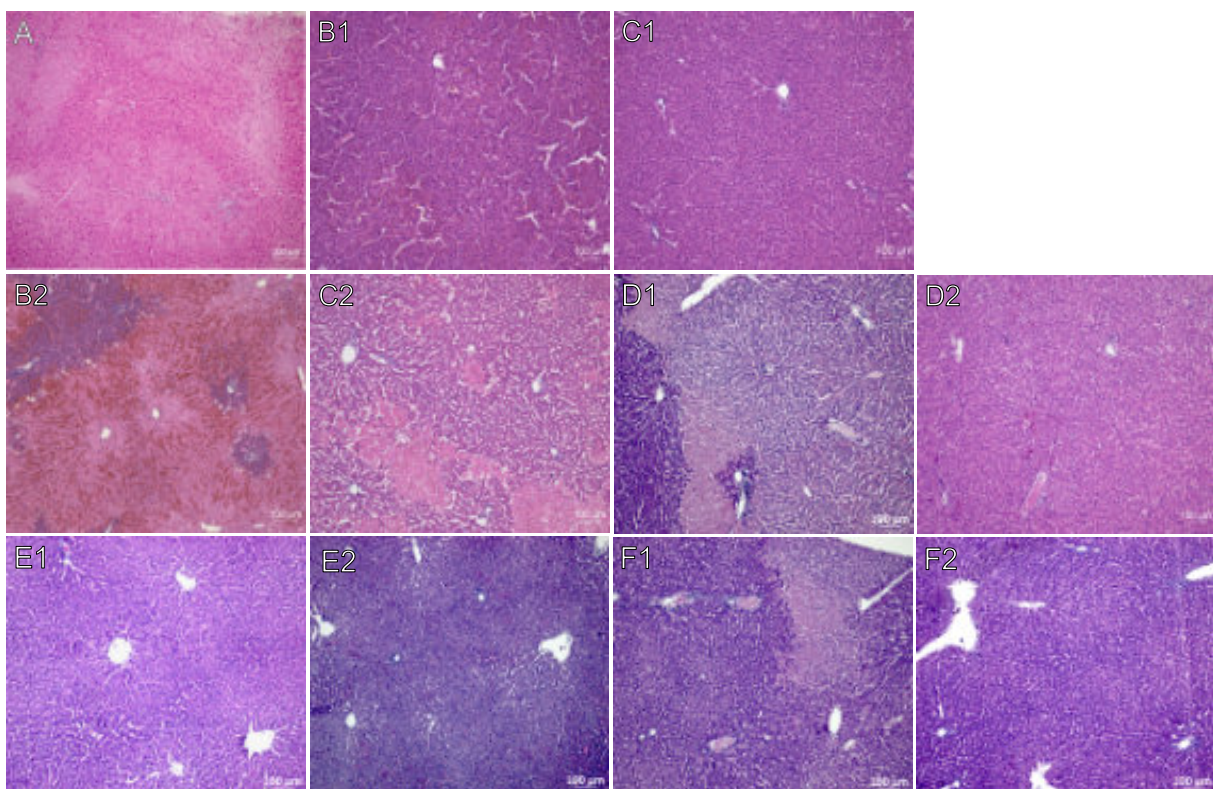


Abbildung 4: Repräsentative Hämatoxylin/Eosin Färbung perfundierter Rattenlebern – (A) Gruppe A: 250ml Perfusat, 21°C. (B1/2) Gruppe B: 80ml Perfusat, 21°C/37°C ohne Dialyse. (C1/2) Gruppe C: 100ml Perfusat, 21°C/37°C mit Dialyse. (D1/2) Gruppe D: 50ml Perfusat, 37°C ohne/mit Dialyse. (E1/2) Gruppe E: 50ml Perfusat, 37°C mit Glycin ohne/mit Dialyse. (F1/2) Gruppe F: Organspende nach Herztod, 50ml Perfusat, 37°C ohne Glycin und ohne Dialyse/ mit Glycin und mit Dialyse.

Modifiziert aus Nösser et al.²⁶ und Gaßner et al.²⁷

Unter subnormothermer Perfusionsbedingungen kam es zu milde ausgeprägten hepatozellulären Ballonierung (**Abb. 4A**). Die normotherme Perfusion ohne Dialyse (Gruppe

B2) zeigte schwerste zentrilobuläre Nekrosen mit sinusoidaler Dilatation und Kongestion (**Abb. 4B2**). Ausgeprägte Nekrosen sowie sinusoidale Kongestion konnten auch durch Dialyse nicht vollständig reduziert werden (**Abb. 4C2**). In der Perfusion unter subnormothermen Bedingungen waren Nekrosen und sinusoidale Kongestion deutlich reduziert (**Abb. 4B1/C1**), jedoch zeigten sich auch in diesen Gruppen eine sinusoidale Dilatation. Ab dem optimierten Perfusionssystem D zeigten sich nur noch geringe sinusoidale Dilatation sowie Ballonierungen (**Abb. 4D2/E2/F2**), wohingegen im jeweiligen Versuchsaufbau ohne Dialyse die Anzeichen für eine Schädigung der Gewebsarchitektur stärker ausgeprägt waren (**Abb. 4D1/E1/F1**).

4.2 Klinischer Teil

2653 Lebertransplantate wurden dem Transplantationszentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin zwischen 2010 bis 2016 von *Eurotransplant* angeboten. Davon wurden 527 (19,9%) Transplantate in unserem Zentrum akzeptiert und transplantiert. 1561 (58,8%) Transplantate wurde an andere Zentren im *Eurotransplant* Verbund alloziert und transplantiert, 565 Organe (21,3%) wurden nicht transplantiert, 304 Organe (11,5%) nicht explantiert. Während die Anzahl der Angebote von 2010 (208 Angebote) bis 2016 (536 Angebote) zunahm, sank die Akzeptanz der angebotenen Organe (2010: 102; 32,9%. 2016: 66; 10,9%. $p < 0,001$). Die Anzahl der auf Grund von makrovesikulärer Steatosis hepatis nicht durchgeführten Transplantationen stieg signifikant an (2010: 15; 2016: 52. $p < 0,001$). Spender abgelehnter Organe waren signifikant älter ($56,0 \pm 21,3$ Jahre) als Spender akzeptierter Organe ($53,3 \pm 18,2$; $p < 0,001$).

Histologische Befunde lagen für 28,9% ($n=766$) der angebotenen Transplantate vor. Insgesamt stieg die Prävalenz der Steatosis hepatis im Spenderpool von 2013 (24,0%) bis 2016 (34,7%, $p=0,007$). Von 2010 bis 2016 nahm die Anzahl der mit Steatosis hepatis transplantierten Organe signifikant zu (2010: $n=22$, 22,3%. 2016: $n=66$, 51,5%. $p < 0,001$), während die Anzahl der abgelehnten Organe mit Steatosis hepatis sank (2010: $n=30$, 61,2%. 2016: $n=66$, 46,8%. $p=0,04$).

Eine frühe Transplantatdysfunktion entwickelten 21,3% der Patienten ($n=23$) ohne Steatose im Transplantat, 39,0% der Patienten ($n=23$) mit milder makrovesikulärer Steatose sowie 56,3% der Patienten ($n=9$) mit moderater bis schwerer makrovesikulärer Steatose ($p=0,013$). Die Rate an früher Transplantatdysfunktion wurde durch eine verlängerte Kaltischämie von mehr als 8 Stunden signifikant erhöht im Vergleich zu Transplantaten mit weniger als 8 Stunden Kaltischämie ($n=9$, 69,2% vs. $n=28$, 30,4%; $p=0,006$). Eine schwere Steatose im Transplantat senkte das 1-Jahres-Überleben signifikant im Vergleich zur Transplantation mit moderater, milder oder ohne Steatose (75% vs. 33,3%; $p=0,04$).

5. Diskussion

Der zunehmende Organmangel erforderte eine Änderung der Akzeptanzpolitik der Transplantationszentren im Verlauf der letzten Jahre mit zunehmender Akzeptanz sogenannter marginaler Organe von Spendern mit erweiterten Spenderkriterien. Aufgrund der weltweit zunehmenden Prävalenz von Adipositas sowie der damit assoziierten Prävalenz der nicht-alkoholischen Steatosis hepatis von 20-30% in Europa sowie 46% in den USA wird für das Jahr 2030 von einer drastischen Abnahme der verfügbaren Lebertransplantate in den USA von 78% bis auf 44% ausgegangen³³⁻³⁵. Die hier dargestellten klinischen Daten²⁹ zeigen, dass trotz rückläufiger Akzeptanz die Anzahl von Lebertransplantaten mit Steatosis hepatis an unserem Zentrum zunahm. Die Rate früher Transplantat-Dysfunktionen³² zeigte sich im Zusammenhang mit Steatosis hepatis signifikant erhöht, insbesondere bei Vorliegen einer verlängerten kalten Ischämiezeit, und führte folglich zu reduziertem Transplantat- und Patienten-Überleben insbesondere bei Organen mit schwerer makrovesikulärer Steatosis. Dies impliziert weitere Forschung, um das Ergebnis der Transplantation steatotischer Lebertransplantate zu verbessern und idealerweise eine sichere Nutzung dieser Organe möglich zu machen, wenn gleich auch andere Einflussfaktoren auf Lebertransplantate berücksichtigt werden müssen³⁶. Neben der Verwendung von marginalen Organen zur Überwindung des Organmangels – mit zum Teil schlechten Ergebnissen – stellt die *ex vivo* Maschinenperfusion der Leber eine Möglichkeit der Verbesserung der aktuellen Situation dar^{5,37}.

Die *ex vivo* Maschinenperfusion von Organen ist keine grundlegend neue Technik und wurde bereits zu Beginn der Implementierung der humanen Organtransplantation für Niere und Leber sowohl klinisch als auch im Tiermodell untersucht³⁸⁻⁴⁰. Aufgrund technischer und logistischer Hürden sowie Kostengründen wurde die Lagerung auf Eis jedoch zum Standard für die Konservierung abdominaler Organe für die Transplantation. Aktuell resultiert aus der zunehmenden Organknappheit die vermehrte Nutzung von marginalen Lebertransplantaten, die sich häufig durch eine erhöhte Anfälligkeit für einen Ischämie-Reperfusionsschaden in Verbindung mit einer längeren kalten Lagerung darstellen, und mit ungünstigeren Outcomes nach Transplantation verbunden sind⁵⁻⁸. So erweckte die *ex vivo* Maschinenperfusion in der letzten Dekade erneut Interesse, da sie potentiell den Spenderpool unter anderem durch die Rekonditionierung von marginalen Transplantaten erweitern könnte³⁷.

Auch wenn bereits erste klinische Studien das Potential der Methode angedeutet haben^{20,41}, ist die *ex vivo* Maschinenperfusion der Leber bislang kein Teil des Standardprozedere bei Lebertransplantation. Erste Publikationen zur Konditionierung steatotischer Lebertransplantate mit normothermer *ex vivo* Leberperfusion konnten eine histologisch nachweisbare Reduktion der Steatosis hepatis von Rattenlebern sowie von Schweinelebern zeigen, jedoch mit eindeutig negativem Effekt auf die Organintegrität^{22,24}. Dies zeigt sich auch

daran, dass bislang in keiner Arbeit eine erfolgreiche Transplantation entfetteter Lebertransplantate gezeigt werden konnte. In der subnormotherme Maschinenperfusion von steatotischen Rattenlebern konnte abgesehen von einer zunehmenden Lipidexkretion im Perfusat keine histologische Reduktion der Steatosis hepatis erzielt werden^{21,23,42}. Eine klinische Pilotstudie mit sechs hypotherm perfundierten, humanen Lebern mit Steatosis hepatis (20-40% Makrosteatose) zeigte, dass alle sechs Empfänger das erste Jahr nach Transplantation überlebten⁴³. Es obliegt weiteren Studien, den Einfluss von *ex vivo* Maschinenperfusion in Abhängigkeit der Perfusionstemperatur und gegebenenfalls unter Hinzunahme von metabolisch konditionierenden Pharmaka zur Entfettung^{22,23} auf das Transplantations-Outcome von Lebertransplantaten mit hohem Anteil an Makrosteatose²⁵ zu untersuchen.

Die Verwendung von transplantablen Organen zur Grundlagenforschung ist aus ethischer Sicht zu verwerfen, wohingegen die Forschung mit aus dem Spenderpool als nicht-transplantierbar eingestuften Organen sowie Großtiermodellen aus Kostengründen nur in geringer Fallzahl durchführbar ist. Daher ist ein Kleintiermodell zur Entwicklung von Perfusionsstrategien, die speziell auf unterschiedliche Typen von marginalen Lebertransplantaten angepasst sind, sowie zur Identifizierung von geeigneten Pharmaka in umfangreichen Dosisfindungsstudien zwingend erforderlich.

Die vorliegende Arbeit zeigt im Detail die Entwicklung sowie die kontinuierliche Weiterentwicklung eines Perfusionssystems für die Rattenleber unter explizierter Darstellung der notwendigen Komponenten. Vergleichbar detaillierte Beschreibungen des verwendeten Perfusionssystem sind häufig in der Literatur nicht angegeben^{21,23,42,44}. Die Etablierung des Perfusionssystem erbrachte Erkenntnisse, welche Anpassungen für bestimmte Ansätze der *ex vivo* Maschinenperfusion der Rattenleber erwogen werden sollten. In den frühen Gruppen erfolgte jeweils der Vergleich zwischen subnormothermer und normothermer Perfusion, um schädigende Einflüsse durch eine höhere Perfusionstemperatur zu detektieren. Das optimierte System zeigte sich jedoch deutlich niedrigere Schädigungseinflüsse auf die perfundierte Leber, sodass das System in eine normotherme und Metabolismus-erhaltende Richtung weiter optimiert wurde.

Analog zu klinischen als zu auch Studien im Großtiermodell zur normothermen Maschinenperfusion wurden hier Erythrozyten als Sauerstoffträger im Perfusat verwendet^{9,20,45}. In der Literatur sind Ansätze mit künstlichen Hämoglobin-basierten Sauerstoffträgern für normotherme und sub-normotherme Temperaturen beschrieben^{19,46}. In nicht dargestellten Versuchen ohne Erythrozyten erschien ein normothermer Ansatz ohne Sauerstoffträger als nicht zielführend, auch wenn die normotherme Re-Perfusion zur Nachahmung einer Transplantation ohne Sauerstoffträger bereits publiziert wurde^{21,42}. Für

sub-normotherme Konditionen ist die Perfusion mit oxygeniertem Perfusat praktikabel, was ebenfalls für die humane Leber gilt^{47,48}.

Durch die Hinzunahme einer Dialyseeinheit konnten insbesondere unter normothermen Bedingungen ansteigende Kaliumwerte im Perfusat stabilisiert und somit die Zellschädigung der Hepatozyten reduziert werden. In der Literatur zeigte sich eine ohne Dialyse normotherm perfundierte Rattenleber als nicht transplantabel⁴⁹.

Die hepatischen Kupffer-Zellen spielen eine entscheidende Rolle in der Aktivierung des Immunsystems bei der Entstehung des Ischämie-Reperfusionsschadens⁸. Die nicht-essentielle Aminosäure Glycin wurde bereits in zahlreichen Publikationen sowohl in der klinischen Anwendung bei Lebertransplantationen als auch im Rattenleber-Transplantationsmodell als Inhibitor beziehungsweise Modulator von Kupffer-Zellen beschrieben, der sich positiv auf das Outcome nach Lebertransplantation auswirkt⁵⁰⁻⁵². In dieser Arbeit wurde die Anwendung von Glycin als Beispiel für eine pharmakologische Intervention im Rahmen der *ex vivo* Maschinenperfusion der Leber gewählt. Während sich die Verwendung von Glycin in den dargestellten Ergebnissen nicht signifikant (unter anderem ALT im Perfusat, Galleproduktion) von der Perfusion ohne Glycin unterscheidet, ist davon auszugehen, dass die Glycin-induzierte Effekte insbesondere nach der Transplantation eine Rolle spielen.

Während die Organspende nach Herztod (donation after circulatory death – DCD) in Deutschland rechtlich nicht zulässig ist, besteht in den meisten west-europäischen Ländern ein DCD-Programm, wobei unter anderem in den Niederlanden bis zu 49,1% der gespendeten Organe von DCD-Spendern kommen und in Großbritannien zwischen 2008 und 2016 von 4063 DCD-Spendern Organe entnommen wurden (39,1% aller Spender)⁵³. In dieser Arbeit wurde die Organspende nach Herztod als Modell für ein marginales Organ gewählt, um die re-konditionierenden Eigenschaften des etablierten Perfusionssystems zu untersuchen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass sich die Perfusions-Ergebnisse (Ausschüttung von ALT, Galleproduktion, Histologie) nicht signifikant von nicht nach Herztod gespendeten Organen unterscheiden, wenn die Lebertransplantate mithilfe des optimierten Perfusionssystem – mit Dialyse-Kreislauf sowie unter Hinzunahme von Glycin – konditioniert wurden. Dies impliziert, dass durch die Optimierung des Perfusionssystems eine verbesserte Konditionierung des Transplantates erreicht werden kann.

Limitiert wird diese Arbeit unter anderem durch unterschiedliche Perfusionszeiten von 6 bis 12 Stunden, wodurch insbesondere die histologischen Analysen nicht umfassend zu vergleichen sind. Das Perfusionssystem sollte weiterhin kontinuierlich optimiert werden. So wird im klinischen Setting unter normothermen Bedingungen unter anderem eine duale Perfusion – mit Perfusionen über Pfortader sowie Arteria hepatica – präferiert. Auch zur pharmakologischen Intervention müssen weitere Studien erfolgen, um eine mögliche

Rekonditionierung insbesondere steatotischer Lebertransplantate zu ermöglichen. Ein geeignetes Agens wurde – trotz zahlreicher potentieller Vorschläge²² – bisher nicht abschließend identifiziert. Ebenfalls ist fortan die tierexperimentelle Lebertransplantation zur Überprüfung der Perfusionsergebnisse insbesondere im Vergleich mit der konventionellen kalten Lagerung wünschenswert. Limitationen der klinischen Auswertung sind die Betrachtung eines kurzen Zeitraums (2010-2016) sowie der Begrenzung auf das Transplantationszentrum der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

Es obliegt künftigen Studien systematisch zu untersuchen, wie sich die *ex vivo* Maschinenperfusion auf das Outcome von Lebetransplantationen von Organen mit erhöhten Anteilen an Steatosis hepatis auswirkt, nachdem die Methode klinisch etabliert und geeignete pharmakologische Interventionsmöglichkeiten in präklinischen Studien identifiziert wurden.

6. Literatur

1. Deutsche Stiftung Organtransplantation. *Jahresbericht Organspende und Transplantation in Deutschland 2018*. Frankfurt am Main: Deutsche Stiftung Organtransplantation; 2019.
2. Tacke F, Kroy DC, Barreiros AP, Neumann UP. Liver transplantation in Germany. *Liver Transplant*. 2016;22(8):1136–1142. doi:10.1002/lt.24461.
3. Schulte K, Kunzendorf U, Feldkamp T, Borzikowsky C, Rahmel A, Kolibay F, Polze N, Fränkel P, Mikle S, Alders B. Rückgang der Organspenden in Deutschland. *Dtsch Arztebl Int*. 2018;115(27–28):463–468. doi:10.3238/arztebl.2018.0463.
4. Bundesärztekammer. Richtlinien zur Organtransplantation nach § 16 TPG. *Dtsch Arztebl*. 2019;116(38)(November):2425–2441. doi:10.3238/arztebl.2019.rili.
5. Linares I, Hamar M, Selzner N, Selzner M. Steatosis in Liver Transplantation: Current Limitations and Future Strategies. *Transplantation*. 2019. doi:10.1097/TP.0000000000002466.
6. de Graaf EL, Kench J, Dilworth P, Shackel NA, Strasser SI, Joseph D, Pleass H, Crawford M, Mccaughan GW, Verran DJ. Grade of deceased donor liver macrovesicular steatosis impacts graft and recipient outcomes more than the Donor Risk Index. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012;27(3):540–546. doi:10.1111/j.1440-1746.2011.06844.x.
7. Lué A, Solanas E, Baptista P, Lorente S, Araiz JJ, Garcia-Gil A, Serrano MT. How important is donor age in liver transplantation? *World J Gastroenterol*. 2016;22(21):4966–4976. doi:10.3748/wjg.v22.i21.4966.
8. Zhai Y, Petrowsky H, Hong JC, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation-from bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(2):79–89. doi:10.1038/nrgastro.2012.225.
9. Ravikumar R, Jassem W, Mergental H, Heaton N, Mirza D, Perera MTPR, Quaglia A, Holroyd D, Vogel T, Coussios CC, Friend PJ. Liver Transplantation After Ex Vivo Normothermic Machine Preservation: A Phase 1 (First-in-Man) Clinical Trial. *Am J Transplant*. 2016;16(6):1779–1787. doi:10.1111/ajt.13708.
10. Guarrera J V., Henry SD, Samstein B, Odeh-Ramadan R, Kinkhabwala M, Goldstein MJ, Ratner LE, Renz JF, Lee HT, Brown RS, Emond JC. Hypothermic machine preservation in human liver

- transplantation: The first clinical series. *Am J Transplant.* 2010;10(2):372–381. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02932.x.
11. Stegemann J, Minor T. Energy charge restoration, mitochondrial protection and reversal of preservation induced liver injury by hypothermic oxygenation prior to reperfusion. *Cryobiology.* 2009. doi:10.1016/j.cryobiol.2009.03.003.
 12. Dutkowski P, Graf R, Clavien PA. Rescue of the cold preserved rat liver by hypothermic oxygenated machine perfusion. *Am J Transplant.* 2006;6(5 1):903–912. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01264.x.
 13. Schlegel A, Rougemont O De, Graf R, Clavien PA, Dutkowski P. Protective mechanisms of end-ischemic cold machine perfusion in DCD liver grafts. *J Hepatol.* 2013;58(2):278–286. doi:10.1016/j.jhep.2012.10.004.
 14. Op Den Dries S, Karimian N, Sutton ME, Westerkamp AC, Nijsten MWN, Gouw ASH, Wiersema-Buist J, Lisman T, Leuvenink HGD, Porte RJ. Ex vivo normothermic machine perfusion and viability testing of discarded human donor livers. *Am J Transplant.* 2013;13(5):1327–1335. doi:10.1111/ajt.12187.
 15. Sutton ME, Op Den Dries S, Karimian N, Weeder PD, De Boer MT, Wiersema-Buist J, Gouw ASH, Leuvenink HGD, Lisman T, Porte RJ. Criteria for Viability Assessment of Discarded Human Donor Livers during Ex Vivo Normothermic Machine Perfusion. *PLoS One.* 2014;9(11). doi:10.1371/journal.pone.0110642.
 16. Kollmann D, Selzner M. Recent advances in the field of warm ex-vivo liver perfusion. *Curr Opin Organ Transplant.* 2017;22(6):555–562. doi:10.1097/MOT.0000000000000471.
 17. Vogel T, Brockmann JG, Friend PJ. Ex-vivo normothermic liver perfusion: An update. *Curr Opin Organ Transplant.* 2010;15(2):167–172. doi:10.1097/MOT.0b013e328337349d.
 18. Boteon YL, Laing RW, Schlegel A, Wallace L, Smith A, Attard J, Bhogal RH, Neil DAH, Hübscher S, Perera MTPR, Mirza DF, Afford SC, Mergental H. Combined Hypothermic and Normothermic Machine Perfusion Improves Functional Recovery of Extended Criteria Donor Livers. *Liver Transplant.* 2018;24(12):1699–1715. doi:10.1002/lt.25315.
 19. de Vries Y, Berendsen TA, Fujiyoshi M, van den Berg AP, Blokzijl H, de Boer MT, van der Heide F, de Kleine RHJ, van Leeuwen OB, Matton APM, Werner MJM, Lisman T, de Meijer VE, Porte R. Transplantation of high-risk donor livers after resuscitation and viability assessment using a combined protocol of oxygenated hypothermic, rewarming and normothermic machine perfusion: study protocol for a prospective, single-arm study (DHOPE-COR-NMP tri. *BMJ Open.* 2019;9(8):e028596. doi:10.1136/bmjopen-2018-028596.
 20. Nasralla D, Coussios CC, Mergental H, Akhtar MZ, Butler AJ, Ceresa CDL, Chiocchia V, Dutton SJ, García-Valdecasas JC, Heaton N, Imber C, Jassem W, Jochmans I, Karani J, Knight SR, Kocabayoglu P, Malagò M, Mirza D, Morris PJ, Pallan A, Paul A, Pavel M, Perera MTPR, Pirenne J, Ravikumar R, Russell L, Upponi S, Watson CJE, Weissenbacher A, Ploeg RJ, Friend PJ. A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation. *Nature.* 2018;557(7703):50–56. doi:10.1038/s41586-018-0047-9.
 21. Vairetti M, Ferrigno A, Carlucci F, Tabucchi A, Rizzo V, Boncompagni E, Neri D, Gringeri E, Freitas I, Cillo U. Subnormothermic machine perfusion protects steatotic livers against

- preservation injury: A potential for donor pool increase? *Liver Transplant*. 2009. doi:10.1002/lt.21581.
22. Nagrath D, Xu H, Tanimura Y, Zuo R, Berthiaume F, Avila M, Yarmush R, Yarmush ML. Metabolic preconditioning of donor organs: Defatting fatty livers by normothermic perfusion ex vivo. *Metab Eng*. 2009;11(4–5):274–283. doi:10.1016/j.ymben.2009.05.005.
 23. Liu Q, Berendsen T, Izamis ML, Uygun B, Yarmush ML, Uygun K. Perfusion defatting at subnormothermic temperatures in steatotic rat livers. *Transplant Proc*. 2013;45(9):3209–3213. doi:10.1016/j.transproceed.2013.05.005.
 24. Jamieson RW, Zilvetti M, Roy D, Hughes D, Morovat A, Coussios CC, Friend PJ. Hepatic steatosis and normothermic perfusion-preliminary experiments in a porcine model. *Transplantation*. 2011;92(3):289–295. doi:10.1097/TP.0b013e318223d817.
 25. Nativ NI, Maguire TJ, Yarmush G, Brasaemle DL, Henry SD, Guarrera J V., Berthiaume F, Yarmush ML. Liver defatting: An alternative approach to enable steatotic liver transplantation. *Am J Transplant*. 2012;12(12):3176–3183. doi:10.1111/j.1600-6143.2012.04288.x.
 26. Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Development of a Rat Liver Machine Perfusion System for Normothermic and Subnormothermic Conditions. *Tissue Eng - Part A*. 2020;26(1–2):57–65. doi:10.1089/ten.tea.2019.0152.
 27. Gassner JMGV, Nösser M, Moosburner S, Horner R, Tang P, Wegener L, Wyrwal D, Claussen F, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Improvement of Normothermic Ex Vivo Machine Perfusion of Rat Liver Grafts by Dialysis and Kupffer Cell Inhibition With Glycine. *Liver Transplant*. 2019;25(2):275–287. doi:10.1002/lt.25360.
 28. Schlegel A, Graf R, Clavien PA, Dutkowski P. Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects from biliary injury in a rodent model of DCD liver transplantation. *J Hepatol*. 2013;59(5):984–991. doi:10.1016/j.jhep.2013.06.022.
 29. Moosburner S, Gassner JMG V., Nösser M, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F, Ritschl P V., Dragun D, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Prevalence of Steatosis Hepatitis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates . *HPB Surg*. 2018. doi:10.1155/2018/6094936.
 30. Chu MJJ, Dare AJ, Phillips ARJ, Bartlett ASJR. Donor Hepatic Steatosis and Outcome After Liver Transplantation: a Systematic Review. *J Gastrointest Surg*. 2015. doi:10.1007/s11605-015-2832-1.
 31. Briceno J, Padillo J, Rufián S, Solórzano G, Pera C. Assignment of steatotic livers by the mayo model for end-stage liver disease. *Transpl Int*. 2005;18(5):577–583. doi:10.1111/j.1432-2277.2005.00091.x.
 32. Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, Shaked A, Christie JD. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transplant*. 2010;16:943–949. doi:10.1002/lt.
 33. Paschos P, Paletas K. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia*. 2009;13(1):9–19.
 34. Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, Lee A, Marczak L, Mokdad AH, Moradi-Lakeh M, Naghavi M, Salama JS, Vos T, Abate KH, Abbafati C, Ahmed MB, Al-Aly Z, Alkerwi A,

- Al-Raddadi R, Amare AT, Amberbir A, Amegah AK, Amini E, Amrock SM, Anjana RM, Ärnlöv J, Asayesh H, Banerjee A, Barac A, Baye E, Bennett DA, Beyene AS, Biadgilign S, Biryukov S, Bjertness E, Boneya DJ, Campos-Nonato I, Carrero JJ, Cecilio P, Cercy K, Ciobanu LG, Cornaby L, Damtew SA, Dandona L, Dandona R, Dharmaratne SD, Duncan BB, Eshrati B, Esteghamati A, Feigin VL, Fernandes JC, Fürst T, Gebrehiwot TT, Gold A, Gona PN, Goto A, Habtewold TD, Hadush KT, Hafezi-Nejad N, Hay SI, Horino M, Islami F, Kamal R, Kasaeian A, Katikireddi S V., Kengne AP, Kesavachandran CN, Khader YS, Khang YH, Khubchandani J, Kim D, Kim YJ, Kinfu Y, Kosen S, Ku T, Defo BK, Kumar GA, Larson HJ, Leinsalu M, Liang X, Lim SS, Liu P, Lopez AD, Lozano R, Majeed A, Malekzadeh R, Malta DC, Mazidi M, McAlinden C, McGarvey ST, Mengistu DT, Mensah GA, Mensink GBM, Mezgebe HB, Mirrahimov EM, Mueller UO, Noubiap JJ, Obermeyer CM, Ogbo FA, u. a. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N Engl J Med*. 2017;377(1):13–27. doi:10.1056/NEJMoa1614362.
35. Pais R, Barritt AS, Calmus Y, Scatton O, Runge T, Lebray P, Poynard T, Ratziu V, Conti F. NAFLD and liver transplantation: Current burden and expected challenges. *J Hepatol*. 2016;65(6):1245–1257. doi:10.1016/j.jhep.2016.07.033.
 36. Moosburner S, Ritschl P V., Wiering L, Gassner JMGV, Öllinger R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. High donor age for liver transplantation: Tackling organ scarcity in Germany. *Chirurg*. 2019;90(9):744–751. doi:10.1007/s00104-019-0801-z.
 37. Monbaliu D, Brassil J. Machine perfusion of the liver: Past, present and future. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(2):160–166. doi:10.1097/MOT.0b013e328337342b.
 38. Whitley RJ. Successful seventeen-hour preservation and transplantation of human-cadaver kidney. *New Engl J Med*. 1968;278(3):608–610. doi:10.1056/NEJM198107023050102.
 39. Belzer FO, Ashby BS, Dunphy JE. 24-Hour and 72-Hour Preservation of Canine Kidneys. *Lancet*. 1967;2(7515):536–538. doi:10.1097/00007890-196805000-00039.
 40. Darin JC. Experiences in ex vivo perfusion of the liver. *Am J Surg*. 1966;111(6):870–872. doi:10.1016/0002-9610(66)90191-7.
 41. Dutkowski P, Schlegel A, De Oliveira M, Müllhaupt B, Neff F, Clavien PA. HOPE for human liver grafts obtained from donors after cardiac death. *J Hepatol*. 2014;60(4):765–772. doi:10.1016/j.jhep.2013.11.023.
 42. Okamura Y, Hata K, Tanaka H, Hirao H, Kubota T, Inamoto O, Kageyama S, Tamaki I, Yermek N, Yoshikawa J, Uemoto S. Impact of Subnormothermic Machine Perfusion Preservation in Severely Steatotic Rat Livers: A Detailed Assessment in an Isolated Setting. *Am J Transplant*. 2017;17(5):1204–1215. doi:10.1111/ajt.14110.
 43. Kron P, Schlegel A, Mancina L, Clavien PA, Dutkowski P. Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) for fatty liver grafts in rats and humans. *J Hepatol*. 2018;68(1):82–91. doi:10.1016/j.jhep.2017.08.028.
 44. Rigo F, De Stefano N, Navarro-Tableros V, David E, Rizza G, Catalano G, Gilbo N, Maione F, Gonella F, Roggio D, Martini S, Patrono D, Salizzoni M, Camussi G, Romagnoli R. Extracellular Vesicles from Human Liver Stem Cells Reduce Injury in an Ex Vivo Normothermic Hypoxic Rat Liver Perfusion Model. *Transplantation*. 2018;102(5):e205–e210. doi:10.1097/TP.0000000000002123.

45. Selzner M, Goldaracena N, Echeverri J, Kathis JM, Linares I, Selzner N, Serrick C, Marquez M, Sapisochin G, Renner EL, Bhat M, McGilvray ID, Lilly L, Greig PD, Tsien C, Cattral MS, Ghanekar A, Grant DR. Normothermic ex vivo liver perfusion using steen solution as perfusate for human liver transplantation: First North American results. *Liver Transplant*. 2016;22(11):1501–1508. doi:10.1002/lt.24499.
46. Fontes P, Lopez R, Van Der Plaats A, Vodovotz Y, Minervini M, Scott V, Soltys K, Shiva S, Paranjpe S, Sadowsky D, Barclay D, Zamora R, Stolz D, Demetris A, Michalopoulos G, Marsh JW. Liver preservation with machine perfusion and a newly developed cell-free oxygen carrier solution under subnormothermic conditions. *Am J Transplant*. 2015;15(2):381–394. doi:10.1111/ajt.12991.
47. Bruinsma BG, Yeh H, Özer S, Martins PN, Farmer A, Wu W, Saeidi N, Op Den Dries S, Berendsen TA, Smith RN, Markmann JF, Porte RJ, Yarmush ML, Uygun K, Izamis ML. Subnormothermic machine perfusion for ex vivo preservation and recovery of the human liver for transplantation. *Am J Transplant*. 2014;14(6):1400–1409. doi:10.1111/ajt.12727.
48. Bruinsma BG, Sridharan G V., Weeder PD, Avruch JH, Saeidi N, Özer S, Geerts S, Porte RJ, Heger M, Van Gulik TM, Martins PN, Markmann JF, Yeh H, Uygun K. Metabolic profiling during ex vivo machine perfusion of the human liver. *Sci Rep*. 2016;6:1–13. doi:10.1038/srep22415.
49. Tolboom H, Pouw R, Uygun K, Tanimura Y, Izamis ML, Berthiaume F, Yarmush ML. A model for normothermic preservation of the rat liver. *Tissue Eng*. 2007;13(8):2143–2151. doi:10.1089/ten.2007.0101.
50. Rentsch M, Puellmann K, Sirek S, Iesalnieks I, Kienle K, Mueller T, Bolder U, Geissler E, Jauch KW, Beham A. Benefit of Kupffer cell modulation with glycine versus Kupffer cell depletion after liver transplantation in the rat: Effects on postischemic reperfusion injury, apoptotic cell death graft regeneration and survival. *Transpl Int*. 2005;18(9):1079–1089. doi:10.1111/j.1432-2277.2005.00185.x.
51. Schemmer P, Bradford BU, Rose ML, Bunzendahl H, Raleigh JA, Lemasters JJ, Thurman RG. Intravenous glycine improves survival in rat liver transplantation. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 1999;276(4 39-4). doi:10.1152/ajpgi.1999.276.4.g924.
52. Schemmer P, Golling M, Kraus T, Mehrabi A, Mayatepek E, Herfarth C, Klar E. Extended experience with glycine for prevention of reperfusion injury after human liver transplantation. *Transplant Proc*. 2002;34(6):2307–2309. doi:10.1016/S0041-1345(02)03247-5.
53. Lomero M, Gardiner D, Coll E, Haase-Kromwijk B, Procaccio F, Immer F, Gabbasova L, Antoine C, Jushinskis J, Lynch N, Foss S, Bolotinha C, Ashkenazi T, Colenbie L, Zuckermann A, Adamec M, Czerwiński J, Karčiauskaitė S, Ström H, López-Fraga M, Dominguez-Gil B, Sarkissian A, Liashchuk S, Tsvetkova E, Bušić M, Michael N, Ilkjaer LB, Dmitriev P, Makisalo H, Rahmel A, Tomadze G, Ioannis B, Mihály S, Carella C, Codreanu I, Jansen N, Konijn C, França A, Zota V, Žilinská Z, Avsec D, Gautier S, Sánchez-Ibáñez J, Terrón C, Vidal C, Beyeler F, Weiss J, Ilbars T, Forsythe J, Johnson R, van Enckevort A. Donation after circulatory death today: an updated overview of the European landscape. *Transpl Int*. 2020;33(1):76–88. doi:10.1111/tri.13506.

7. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Maximilian Nösser, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **Etablierung und Evaluierung eines Systems zur ex vivo Maschinenperfusion der Rattenleber unter Berücksichtigung von Steatosis hepatis in der Spenderpopulation** selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

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

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

. Dezember 2020

Unterschrift

7.1 Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Maximilian Nösser hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: **Nösser M***, Gassner JMGV*, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Development of a Rat Liver Machine Perfusion System for Normothermic and Subnormothermic Conditions., Tiss. Eng. Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

Beitrag im Einzelnen:

- Planung der Studie
 - Erstellung des Konzeptes und Hintergrund der Notwendigkeit des zu etablierenden Modells zur ex vivo Maschinenperfusion der Rattenleber, Literaturrecherche
- Durchführung der Studie
 - Selbstständige Durchführung und Organisation der Tierexperimente inklusive eigenständiger Durchführung der Narkose der Versuchstiere sowie eigenständige Durchführung der Operation (Leber-Explantation in finaler Narkose), Auswahl der benötigten Versuchsmaterialien
 - Etablierung des Perfusionssystem inklusive Konzeption der Perfusionskammer (Fig. 2) sowie Auswahl der Komponenten des Perfusionssystems (Fig. 1)
 - Aufbau des Perfusionssystem (Fig. 1) und Durchführung der Perfusionsversuche, inklusive kontinuierlicher Überwachung des Perfusionssystems
- Probengewinnung und Datenerhebung
 - Entnahme und Verarbeitung von Galleproben und Blutproben zur Generierung der Laborparameter
 - Entnahme der Gewebeproben, sowie Entwässerung, Paraffin-Einbettung und Herstellung histologischer Schnitte
- Datenauswertung
 - Durchführung der statistischen Auswertung und Erstellung der Grafiken (Fig. 4)
 - Qualitative Auswertung aller histologischen Schnitte mit Entwurf der grafischen Darstellung (Fig. 5)
- Verfassen des Manuskripts
 - Selbstständige Erstellung des Manuskriptes inklusive Literaturrecherche
 - Generierung von Grafiken (Fig. 1, 2, 3)
 - Einreichung des Manuskriptes beim Journal Tissue Engineering, Part A inklusive der Revision des Manuskriptes und erneuten Einreichung

*Die Autoren haben zu gleichen Anteilen zum Manuskript beigetragen.

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

Beitrag im Einzelnen:

- Planung der Studie
 - Mitgestaltung des Konzeptes zur Verbesserung des etablierten Systems zur ex vivo Maschinenperfusion der Rattenleber
- Planung und Durchführung der Studie
 - Mithilfe bei der Durchführung der Tierexperimente inklusive Durchführung der Narkose der Versuchstiere sowie eigenständige Durchführung der Operation (Leber-Explantation in finaler Narkose), Auswahl der benötigten Versuchsmaterialien
 - Selbstständiger Aufbau des Perfusionssystem und Durchführung der Perfusionsversuche (Fig. 1)
- Probengewinnung und Datenerhebung
 - Entnahme und Verarbeitung von Galleproben sowie Blutproben zur Generierung der Laborparameter
 - Entnahme sowie Entwässerung der Gewebeproben
- Datenauswertung
 - Statistische Auswertung der laborchemischen Parameter inklusive grafische Aufarbeitung (Fig.2)
- Manuskripterstellung
 - Kritische Revision des Manuskripts und der Grafiken vor der Einreichung zur Veröffentlichung

Publikation 3: Moosburner S, Gassner JMGV, **Nösser M**, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F, Ritschl PV, Dragun D, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Prevalence of Steatosis Hepatis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates., HPB Surgery. 2018 Nov;2018:1-9.

Beitrag im Einzelnen:

- Planung der Studie
 - Mitwirkung bei der Planung der Studie im Rahmen der Konzeption eines Anwendungsfeldes der ex vivo Maschinenperfusion von Lebertransplantaten
- Datenerhebung
 - Mitwirkung bei der retrospektiven Auswertung von Patientendaten (Table 1)
 - Mitwirkung bei der grafischen Aufarbeitung (Fig. 1, 2)
- Manuskripterstellung
 - Kritische Revision des Manuskripts und der Grafiken vor der Einreichung zur Veröffentlichung

Unterschrift des Doktoranden

8. Ausgewählte Publikationen

Nösser M*, Gassner JMGV*, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a Rat Liver Machine Perfusion System for Normothermic and Subnormothermic Conditions.**

Tiss. Eng. Part A. 2020;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

(Impact Factor: 3,496 im Jahr 2019)

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

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

PubMed PMID: 30341973

(Impact Factor: 4,57 im Jahr 2019)

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

HPB Surgery. 2018;2018:1-9.

PubMed PMID: 30515073

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

(SCImago Journal Rank 0,51 im Jahr 2019)

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

Nösser M, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. **Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions.**

Tiss Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65.

PubMed PMID: 31364485

<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152>

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287.

PubMed PMID: 30341973

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

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

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

HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493.

PubMed PMID: 30515073

<https://doi.org/10.1155/2018/6094936>

9. Lebenslauf

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

10. Komplette Publikationsliste

- Claussen F, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, **Nösser M**, Tang P, Wegener L, Pohl J, Reutzel-Selke A, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Dual versus single vessel normothermic ex vivo perfusion of rat liver grafts using metamizole for vasodilatation. PLoS One. 2020 Jul;15(7):e0235635. DOI: [10.1371/journal.pone.0235635](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235635)
(Impact Factor: 2,77 im Jahr 2019)
- **Nösser M**, Gassner JMGV, Moosburner S, Wyrwal D, Claussen F, Hillebrandt KH, Horner R, Tang P, Reutzel-Selke A, Polenz D, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Development of a rat liver machine perfusion system for normothermic and subnormothermic conditions. Tissue Eng Part A. 2020 Jan;26(1-2):57-65. DOI: [10.1089/ten.TEA.2019.0152](https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0152)
(Impact Factor: 3,496 im Jahr 2019)
- Wabitsch S, Benzing C, Krenzien F, Splith K, Haber PK, Arnold A, **Nösser M**, Kamali C, Hermann F, Günther C, Hirsch D, Sauer IM, Pratschke J, Schmelzle M. Human Stem Cells Promote Liver Regeneration After Partial Hepatectomy in BALB/C Nude Mice. J Surg Res. 2019 Jul;239:191-200. DOI: [10.1016/j.jss.2019.02.010](https://doi.org/10.1016/j.jss.2019.02.010)
(Impact Factor: 1,87 im Jahr 2019)
- Gassner JMGV, **Nösser M**, Moosburner S, Horner R, Tang P, Wegener L, Wyrwal D, Claussen F, Arsenic R, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Improvement of Normothermic Ex Vivo Machine Perfusion of Rat Liver Grafts by Dialysis and Kupffer Cell Inhibition With Glycine. Liver Transpl. 2019 Feb;25(2):275-287. DOI: [10.1002/lt.25360](https://doi.org/10.1002/lt.25360)
(Impact Factor: 4,57 im Jahr 2019)
- Moosburner S, Gassner JMGV, **Nösser M**, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F, Ritschl PV, Dragun D, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Prevalence of Steatosis Hepatitis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates. HPB Surg. 2018 Nov 1;2018:609493. DOI: [10.1155/2018/609493](https://doi.org/10.1155/2018/609493)
(SCImago Journal Rank 0,51 im Jahr 2019)
- Major RD, Kluge M, Jara M, **Nösser M**, Horner R, Gassner J, Struecker B, Tang P, Lippert S, Reutzel-Selke A, Geisel D, Denecke T, Stockmann M, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. The Predictive Value of the Maximal Liver Function Capacity Test for the Isolation of Primary Human Hepatocytes. Tissue Eng Part C Methods. 2018 Mar;24(3):179-186. DOI: [10.1089/ten.TEC.2017.0369](https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2017.0369)
(Impact Factor: 2,608 im Jahr 2019)
- Siefert J, Hillebrandt KH, Kluge M, Geisel D, Podrabsky P, Denecke T, **Nösser M**, Gassner J, Reutzel-Selke A, Strücker B, Morgul MH, Guel-Klein S, Unger JK, Reske A, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Computer tomography-based survey of the vascular anatomy of the juvenile Göttingen minipig. Lab Anim. 2017 Aug;51(4):388-396. DOI: [10.1177/0023677216680238](https://doi.org/10.1177/0023677216680238)
(Impact Factor: 2,794 im Jahr 2018)
- Napierala H, Hillebrandt KH, Haep N, Tang P, Tintemann M, Gassner J, **Noesser M**, Everwien H, Seiffert N, Kluge M, Teegen E, Polenz D, Lippert S, Geisel D, Selke A R, Raschzok N, Andreou A, Pratschke J, Sauer IM, Struecker B. Engineering an endocrine Neo-Pancreas by repopulation of a decellularized rat pancreas with islets of Langerhans. Sci Rep. 2017 Feb 2;7:41777. DOI: [10.1038/srep41777](https://doi.org/10.1038/srep41777)
(Impact Factor: 3,998 im Jahr 2019)

- Müller V, Fikatas P, Gül S, **Noesser M**, Fuehrer KT, Sauer I, Pratschke J, Zorron R. New Technique for Obesity Surgery: Internal Gastric Plication Technique Using Intra-gastric Single-Port (Igs-Igp) in Experimental Model. *Arq Bras Cir Dig.* 2017 Jan-Mar;30(1):60-64. DOI: [10.1590/0102-6720201700010017](https://doi.org/10.1590/0102-6720201700010017)
(Impact Factor: 0,593 im Jahr 2019)
- Horner R, Kluge M, Gassner J, **Nösser M**, Major RD, Reutzel-Selke A, Leder AK, Struecker B, Morgul MH, Pratschke J, Sauer IM, Raschzok N. Hepatocyte Isolation After Laparoscopic Liver Resection. *Tiss Eng Part C Methods.* 2016 Sep; 22(9):839-46. DOI: [10.1089/ten.TEC.2016.0187](https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2016.0187)
(Impact Factor: 2,608 im Jahr 2019)

11. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinen Mentoren Priv.-Doz. Dr. med. Nathanael Raschzok und Prof. Dr. med. Igor Maximilian Sauer der Chirurgischen Klinik, Campus Charité Mitte | Campus Virchow Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin für die Überlassung des Themas sowie Ihre fortwährende Unterstützung in der Gestaltung dieser Arbeit und wissenschaftliche Förderung.

Ich danke der Arbeitsgruppe der experimentellen Chirurgie und allen Kooperationspartner*innen und Co-Autor*innen für die Unterstützung und Zusammenarbeit, insbesondere Joseph Gaßner und Simon Moosburner für die langjährige Zusammenarbeit und Freundschaft.

Mein herzlicher Dank geht außerdem insbesondere an Heike Nösser und Marie Bernhard für die fortwährende Unterstützung sowie an meine Freund*innen, die mich bis hierhin begleitet haben.