

Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie  
Campus Virchow-Klinikum  
Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

## DISSERTATION

Die Analyse der hepatischen Mikrozirkulation nach Ischämie und  
Reperfusion während der humanen Lebertransplantation

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité –  
Universitätsmedizin Berlin

Gerd Daniel Pust

Potsdam

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. P. Neuhaus  
2. Priv.-Doz. Dr. med. R. Pfitzmann  
3. Priv.-Doz. Dr. med. Th. Berg

Datum der Promotion: 09.05.2008

# 1 Widmung

„In their last hour, they gave a life time.“

Organ Donor Memorial, University of Miami

Im Gedenken an alle Organspender und ihre Familien, die in Stunden von Verlust und Trauer Hoffnung und ein zweites Leben schenkten.

## 2 Abstract Deutsch

Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPSI) ermöglicht die Visualisierung und quantitative Analyse der hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen und Ischämie/Reperfusion-Bedingungen am Menschen. Erstmals konnten die physiologischen Normalparameter der humanen hepatischen Mikrozirkulation quantitativ ermittelt werden. Im Lebertransplantationsprozess kann direkt während der Operation die initiale Mikrozirkulation nach Reperfusion evaluiert und anschließend computergestützt quantitativ exakt gemessen werden. Die Korrelation der gemessenen Mikrozirkulationsparameter und transplantationspezifischen Daten ermöglicht die Untersuchung von Ischämie/Reperfusion-Schäden. Die gemessenen Parameter der humanen physiologischen Mikrozirkulation waren mit Ausnahme der Erythrozytenflussgeschwindigkeit normalverteilt. Bei der orthotopen Lebertransplantation ist eine ausgeprägte postischämische reaktive Hyperämie festzustellen, die sich durch eine Zunahme des volumetrischen Blutflusses auszeichnet. Die Steigerung des volumetrischen Blutflusses ist ein bedeutender Faktor zur Sicherstellung einer adäquaten Gewebepfusion nach Reperfusion. In dieser Arbeit werden die beiden Reperusionsverfahren simultane und sequentielle Rearterialisierung in Bezug auf die Mikrozirkulationsstörung und Transplantatfunktion bei der Leberlebendtransplantation gegenübergestellt. Die alleinige portale Reperfusion führt nicht zu einer ausreichenden nutritiven Perfusion, wodurch das Transplantat initial geschädigt wird. Die folgende Rearterialisierung führte zu einer zügigen Wiederherstellung einer adäquaten Perfusion mit sich einstellender postischämischer Hyperämie. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Zeitintervall portale-arterielle Reperfusion und den gemessenen mikrozirkulatorischen Parametern. Die Messergebnisse dieser Studie unterstützen die simultane Reperfusion als geeignetes Standardprotokoll für die Reperfusion bei der humanen Lebertransplantation.

Schlagworte:

Orthogonal Polarization Spectral Imaging, Lebertransplantation, Ischämie, Reperfusion, simultan, sequentiell, Mikrozirkulation, physiologisch, Leber

### **3 Abstract Englisch**

Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPSI) enables the visualization and quantitative analyses of hepatic microcirculation under physiologic and ischemia/reperfusion conditions in humans. For the first time the physiologic parameters of the human hepatic microcirculation were measured. During liver transplantation the initial microcirculation after reperfusion can be evaluated intraoperatively. Subsequent computer assisted measurements can be performed. Correlation between microcirculatory parameters and transplant specific data enables the analyses of ischemia/reperfusion injury. The measured parameters of the human physiologic microcirculation were with exception of the red blood cell velocity normal distributed. A distinct postischemic hyperemia is observed in ortotopic liver transplantation which is based on an increase of volumetric intrasinusoidal blood flow. The increase in volumetric blood flow is an important factor in securing adequate tissue perfusion after reperfusion. In this paper the two reperfusion strategies simultaneous versus sequential were compared in respect to microcirculatory disturbance and graft function during liver transplantation. Isolated portal reperfusion does not result in adequate nutritive tissue perfusion which leads to initial graft damage. Rearterialization restores adequate perfusion accompanied by postischemic hyperemia. A correlation between the time interval portal-arterial reperfusion and measured postreperfusion microcirculatory parameters was observed. The results of this study support simultaneous reperfusion in human liver transplantation.

Key words:

Orthogonal Polarization Spectral Imaging, hepatic microcirculation, physiologic, ischemia, reperfusion, liver transplant, simultaneous, sequential, reperfusion injury

## **4 Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>WIDMUNG.....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>ABSTRACT DEUTSCH .....</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>ABSTRACT ENGLISCH.....</b>	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>INHALTSVERZEICHNIS.....</b>	<b>6</b>
<b>5</b>	<b>EINFÜHRUNG.....</b>	<b>10</b>
<b>5.1</b>	<b>Die Anatomie und Physiologie der hepatischen Mikrozirkulation .....</b>	<b>10</b>
<b>5.2</b>	<b>Ischämie- und Reperfusionsschäden während der Lebertransplantation.....</b>	<b>13</b>
5.2.1	Die Phase der Organischämie.....	13
5.2.2	Die Phase der Reperfusion.....	15
<b>5.3</b>	<b>Störung der hepatischen Mikrozirkulation durch Ischämie- und Reperfusionsschäden .....</b>	<b>15</b>
<b>5.4</b>	<b>Einfluss der durch Ischämie und Reperfusion alterierten hepatischen Mikrozirkulation auf die klinische Transplantatfunktion .....</b>	<b>17</b>
<b>5.5</b>	<b>In-vivo Modelle zur hepatischen Mikrozirkulationsuntersuchung .....</b>	<b>18</b>
<b>6</b>	<b>ABLEITUNG DER AUFGABENSTELLUNG.....</b>	<b>21</b>
<b>6.1</b>	<b>Zielsetzung der Dissertation .....</b>	<b>21</b>
<b>6.2</b>	<b>Ableitung der Fragestellungen .....</b>	<b>21</b>
<b>7</b>	<b>PATIENTEN UND METHODEN .....</b>	<b>23</b>
<b>7.1</b>	<b>Patientengruppen und klinische Charakteristika.....</b>	<b>23</b>
7.1.1	Übersicht über die Patientengruppen.....	23
7.1.2	Gruppe I - Evaluierung der Untersuchungsmethodik .....	24
7.1.2.1	Demographische Parameter .....	24
7.1.2.2	Hämodynamische und assoziierte Parameter .....	24
7.1.2.3	Operationstechnik der Leberteilresektion zur Leberlebendspende .....	24
7.1.3	Gruppe IIA - sequentiell reperfundierte Leberlebendtransplantationen .....	25

7.1.3.1	Demographische und transplantationsspezifische Parameter .....	25
7.1.3.2	Hämodynamische und assoziierte Parameter .....	27
7.1.3.3	Operationstechnik der sequentiell reperfundierten Leberlebendtransplantation .....	27
7.1.4	Gruppe IIB - simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen .....	28
7.1.4.1	Demographische und transplantationsspezifische Parameter .....	28
7.1.4.2	Hämodynamische und assoziierte Parameter .....	29
7.1.4.3	Operationstechnik der simultan reperfundierten Leberlebendtransplantation .....	29
7.1.5	Gruppe III – Orthotope Lebertransplantationen (OLTIX) .....	30
7.1.5.1	Demographische und transplantationsspezifische Parameter .....	30
7.1.5.2	Hämodynamische und assoziierte Parameter .....	33
7.1.5.3	Operationstechnik der orthotopen Lebertransplantation .....	33
<b>7.2</b>	<b>Anästhesieverfahren .....</b>	<b>34</b>
7.2.1	Anästhesie bei der Spender-Operation zur Leberlebendspende .....	34
7.2.2	Anästhesie bei der Empfänger-Operation zur orthotopen und Lebend - Lebertransplantation .....	34
<b>7.3</b>	<b>Orthogonal Polarization Spectral (OPS) Imaging .....</b>	<b>35</b>
<b>7.4</b>	<b>Intraoperative Messung .....</b>	<b>37</b>
<b>7.5</b>	<b>Bildanalytische Auswertung der Mikrozirkulationsdaten.....</b>	<b>38</b>
7.5.1	Messung des sinusoidalen Durchmessers.....	38
7.5.2	Messung des inter-sinusoidalen Abstandes ISD .....	39
7.5.3	Messung der funktionellen sinusoidalen Dichte FSD .....	39
7.5.4	Messung der Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV) .....	41
7.5.5	Messung des volumetrischen Blutflusses VBF .....	42
<b>7.6</b>	<b>Statistische Auswertung der Messdaten.....</b>	<b>42</b>
7.6.1	Gruppe I - Evaluierung der Untersuchungsmethodik .....	42
7.6.2	Gruppe IIA - sequentiell reperfundierte Leberlebendtransplantationen und Gruppe IIB - simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen .....	42
7.6.3	Gruppe III – Orthotope Lebertransplantationen (OLTIX) .....	43
<b>8</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>44</b>
<b>8.1</b>	<b>Evaluierung der Messmethode .....</b>	<b>44</b>
<b>8.2</b>	<b>Mikrozirkulationsanalyse während der humanen Leberlebendtransplantation .....</b>	<b>48</b>
8.2.1	Gruppe der sequentiell reperfundierten Leberlebendtransplantationen.....	48
8.2.1.1	Hämodynamische und assoziierte Parameter .....	48
8.2.1.2	Qualitative Beurteilung der Perfusion .....	48
8.2.1.3	Quantitative Messergebnisse der sinusoidalen Perfusion .....	50

8.2.1.4	Korrelationen Rearterialisierungsintervall versus Perfusionsparameter.....	54
8.2.1.5	Korrelationen zwischen Perfusionsparametern und Leberenzymen.....	56
8.2.2	Gruppe der simultan reperfundierten Leberlebendtransplantationen .....	56
8.2.2.1	Hämodynamische und assoziierte Parameter .....	56
8.2.2.2	Qualitative Beurteilung der Perfusion .....	57
8.2.2.3	Quantitative Messergebnisse der sinusoidalen Perfusion .....	58
8.2.3	Graphische Gegenüberstellung sequentielle versus simultane Reperfusion .....	61
8.2.4	Die Mikrozirkulation bei der orthotropen Lebertransplantation.....	63
8.2.4.1	Hämodynamische und assoziierte Parameter .....	63
8.2.4.2	Qualitative Beurteilung der Perfusion .....	63
8.2.4.3	Quantitative Messergebnisse der sinusoidalen Perfusion .....	64
8.2.4.4	Korrelationen zwischen den einzelnen mikrozirkulatorischen Parametern.....	68
8.2.4.5	Korrelation zwischen Perfusionsparametern und transplantationstechnischen Daten .....	68
8.2.4.6	Postoperative Analyse der laborchemischen Leberfunktionswerte .....	69
8.2.4.7	Einfluss transplantationsspezifischer Daten auf Ischämie/Reperfusion- Schäden.....	72
8.2.4.8	Einfluss der kalten Ischämiezeit auf I/R-Schäden und die Leberfunktion .....	72
8.2.4.9	Einfluss der hepatischen Mikrozirkulation auf I/R – Schäden und die Leberfunktion .....	74
<b>9</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>79</b>
9.1	<b>Bewertung des OPSI Untersuchungsverfahrens.....</b>	<b>80</b>
9.2	<b>Die quantitative Messung mikrozirkulatorischer Parameter.....</b>	<b>81</b>
9.3	<b>Die physiologischen Parameter der humanen hepatischen Mikrozirkulation .....</b>	<b>82</b>
9.4	<b>Die initiale hepatische Mikrozirkulation nach Reperfusion bei der humanen orthotopen full size Lebertransplantation .....</b>	<b>83</b>
9.5	<b>Zusammenhänge zwischen initialen Reperusionsparametern, transplantationsspezifischen Parametern und postoperativen Transaminasen in Hinblick auf die Transplantatintegrität und - funktion bei der OLTx.....</b>	<b>85</b>
9.6	<b>Die humane hepatische Leberlebendtransplantation – Vergleich von simultaner versus sequentieller Reperfusion im Hinblick auf die initiale post- I/R Mikrozirkulation, Transplantatintegrität und Transplantatfunktion.....</b>	<b>87</b>
9.7	<b>Therapeutische Einflussnahme auf die durch Ischämie und Reperfusion alterierte Mikrozirkulation während der Lebertransplantation.....</b>	<b>91</b>
<b>10</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>96</b>



<b>11</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>98</b>
<b>12</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>100</b>
<b>13</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>101</b>
<b>14</b>	<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>107</b>
<b>15</b>	<b>PUBLIKATIONSVERZEICHNIS .....</b>	<b>125</b>
<b>16</b>	<b>EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG .....</b>	<b>126</b>
<b>17</b>	<b>LEBENS LAUF.....</b>	<b>127</b>
<b>18</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>129</b>

## 5 Einführung

Die Lebertransplantation nimmt einen bedeutenden Stellenwert in der kurativen Therapie von hepatischen Erkrankungen, die ein chronisches oder akutes Leberversagen induzieren, ein. Eine Vielzahl hepatischer Erkrankungen gehören zum Indikationsbereich [1], wobei die Diagnosen am häufigsten aus dem Spektrum der virusassoziierten, nutritiv-toxischen, metabolischen oder autoimmunen Leberzirrhosen heraus gestellt werden können.

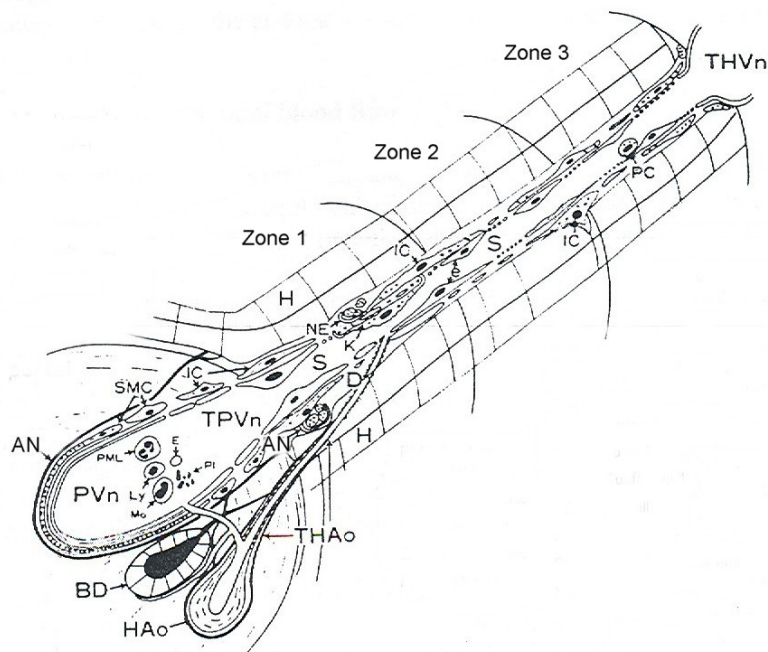
In der European Liver Transplant Registry wurden bis 2003 44.286 Lebertransplantationen registriert [2]. In den USA wurden 1998 4.487 Patienten [3], in Deutschland 2001 757 Patienten transplantiert, wobei der Anteil von Lebendspenden bei 12,5 % lag [4]. Zwischen 1988 und 1997 betrug bei 22.089 in Europa transplantierten Patienten die 5-Jahres-Überlebensrate 66 %, die 8-Jahres-Überlebensrate 61 %. Es ist hervorzuheben, dass 65 % der Todesfälle bereits im ersten halben Jahr nach Transplantation auftraten. Neben allgemeinen, chirurgischen und infektiologischen (septischen) Komplikationen ist das Transplantatversagen besonders hervorzuheben, welches zu einer Retransplantationsrate von 11 % führte [5].

Nach Hartley et. Al [1] führen folgende Ursachen zum Transplantatversagen: Neben akuter (4 %) und chronischer (22 %) Abstoßung besitzen primäre Nichtfunktion (10%), Gefäßverschluss (17%) und nicht-thrombotische Infarzierung (6%) einen entscheidenden Anteil. Bei weiteren 16 % ist die Ursache unbekannt. In den vier zuletzt genannten Gruppen, die zusammen 49 % des primären Transplantatversagens ausmachen, steht das Mikrozirkulationsversagen im Vordergrund der Pathogenese. Verständnis und Kenntnis der Mikrozirkulation des transplantierten Organs nehmen daher eine besondere Bedeutung für den Transplantationschirurgen ein. Es ist weitgehend bekannt, dass Ischämie- und Reperfusionmechanismen (I/R) maßgeblich die Mikrozirkulation und somit die nutritive Versorgung sowie die Funktionsaufnahme des transplantierten Organs beeinflussen [6-8].

### 5.1 Die Anatomie und Physiologie der hepatischen Mikrozirkulation

Die anatomische Architektur des hepatischen mikrozirkulatorischen Systems besteht aus zwei afferenten Gefäßen, der terminalen portalen Venole und der terminalen hepatischen Arteriole, die in den Lebersinusoid münden. Die untereinander

anastomosierenden Sinusoide, die das kapillare Bett darstellen, drainieren schließlich in die efferenten terminalen hepatischen Venolen [9]. Die Sinusoide zeichnen sich durch die Besonderheit aus, dass sie ein fenestriertes Endothel besitzen, wodurch Blutplasma ungehindert in den perisinusoidalen Disse-Raum zirkulieren kann [10]. Die folgende Abbildung nach Oda et al. [11] zeigt schematisch eine mikrovaskuläre Einheit mit ihrer zellulären Architektur.



**Abbildung 1: Schematische Darstellung einer mikrovaskulären Einheit mit ihrer zellulären Architektur nach Oda et al. [11]** S=Sinusoid, PVn=portale Venole, TPVn=terminale portale Venole, HAo=hepatische Arteriole, THAo=terminale hepatische Arteriole, THVn=terminale hepatische Venole, BD=Gallengang, AN=autonome Nervenenden, PML=polymorphe Leukozyten, Ly=Lymphozyt, Mo=Monozyt, E=Erythrozyt, PI=Thrombozyt, E=sinusoidales Endothel, IC=Ito Zelle, K=Kupffer'sche Sternzelle, PC=Pit-Zelle, H=Hepatozyt, SMC=glatte Muskelzellen.

Auffallend am spezialisierten mikrovaskulären System der Leber ist ein hoher Druckgradient zwischen präsinusoidalen portalen Venolen und Arteriolen einerseits und Sinusoiden andererseits [12]. Dies führte zu der Annahme, dass sich am Übergang der terminalen Arteriole und der terminalen portalen Venole zum Sinusoid sphinkterartige Strukturen befinden [13, 14], die den Bluteinstrom in die Sinusoide regulieren. In diesen Bereichen ist das Endothel nicht fenestriert, besitzt eine Basalmembran und es lassen sich eine Vielzahl von Aktinfilamenten nachweisen. Im Zusammenspiel mit diesem spezialisierten Endothel sind auch Ito-Zellen an der Sphinkterstruktur beteiligt [11]. Auch das fenestrierte sinusoidale Endothel besitzt Aktin- und Myosinfilamente [15] und

dadurch kontraktile Eigenschaften. Dies ist Voraussetzung für die Regulierung sowohl der Durchmesser als auch der Anzahl der Fenestrae, wodurch eine Steuerung des Plasmaflusses in den Disse-Raum ermöglicht wird [16, 17].

Der lokale Blutfluss wird im Wesentlichen humoral, neurogen und myogen gesteuert. An der Regulierung sind vasokonstriktive Endotheline (ET) [18] und das vasorelaxierende Stickstoffmonoxid NO [19] beteiligt. Endothelin-Rezeptoren konnten an Arteriolen, terminalen Arteriolen, hepatischen Venolen, terminalen Venolen, im Bereich der Sinusoide an hepatischen Stellate-Zellen (=Ito-Zellen) und auch an Sinusendothelzellen [20, 21] nachgewiesen werden. In Endothelzellen lokal gebildete Endotheline binden an Rezeptoren der Ito-Zellen und Endothelzellen der Sinusoide und führen über ein intrazelluläres  $Ca^{2+}$ -Kalmodulin-Actomyosin-System zur Tonuserhöhung der Zellen. Dies führt über die Abnahme des Gefäßdurchmessers zu einem erhöhten Flusswiderstand. Eine besondere Funktion in der lokalen Homöostase des Blutflusses nimmt das fenestrierte Endothel ein. Oda et al. [16, 22] konnten in Abhängigkeit vom sinusoidalen Blutfluss eine Veränderung der Durchmesser und auch der Anzahl der Fenster im Endothel über Endothelin induzierte Endothelzellenkontraktionen zeigen. Bei induzierter Zunahme des hepatischen sinusoidalen Blutflusses kam es zu einer Dilatation, bei reduziertem sinusoidalen Blutfluss zu einer Abnahme des Durchmessers der Fenster im Endothel. Dadurch wird schließlich der Fluss von Plasma über das fenestrierte Endothel in den Disse-Raum in Abhängigkeit vom sinusoidalen Blutfluss reguliert. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Durchmesser der endothelialen Fenestrae sich aktiv ändern und nicht passiv durch den Blutfluss. So wurde in Zellkulturen ohne Blutfluss eine Kontraktion der Fenster nach Zugabe von Norepinephrin [23], Neuropeptid Y [23] und Serotonin [15] beobachtet. Eine Dilatation der Fenster erfolgte hingegen nach Zugabe von Acetylcholin [23], Isoproterenol [23], Prostaglandin E1 [24] und vasoaktivem intestinalem Peptid [23]. Diese Beobachtungen lassen neben der Endotheline- und NO- Steuerung auch eine neuronale Komponente der Regulation des hepatischen sinusoidalen Blutflusses vermuten. Nichtmyelinisierte Nerven konnten in Leberläppchen mikroskopisch und immunhistochemisch nachgewiesen werden, welche in unmittelbarer Nähe zu perisinusoidalen Zellen enden [25, 26]. Lin et al. [27] wiesen Protein Gen Produkt (PGP) 9.5 als Marker für autonome Nervenfasern überwiegend in unmittelbarer Nähe zu Arteriolen und portalen Gefäßen nach. Der Nachweis von Enzymen der Katecholaminsynthese in den Nervenfasern weist auf einen sympathischen Ursprung hin. Auch Akiyoshi et al. [28] zeigten

immunohistochemisch aminerge, cholinerge und peptinerge Nervenfasern in unmittelbarer Nähe zu arteriellen und portalen Gefäßen in der humanen Leber. Die unmittelbare Nähe der Nervenenden bis hin zu perisinusoidalen Zellen lässt eine autonome neuronale Mitbeteiligung an der lokalen mikrozirkulatorischen Regulation vermuten.

## **5.2 Ischämie- und Reperfusionsschäden während der Lebertransplantation**

Der Prozess der Organtransplantation kann in Bezug auf eine potentielle Schädigung im Wesentlichen in drei Phasen eingeteilt werden. In der Phase I, der Zeit der Transplantatischämie, ist die nutritive Versorgung des Donororgans unterbrochen. Die darauf folgende Phase II zeichnet sich durch Schädigungsmechanismen während der Reperfusion aus. In der Phase III, in der bereits die nutritive Versorgung des Organs wieder hergestellt ist und die transplantierte Leber ihre Funktion aufnimmt, stehen immunologische Schädigungsmechanismen im Vordergrund.

### **5.2.1 Die Phase der Organischämie**

Dieser Zeitabschnitt beginnt mit der Phase der kalten Ischämie, die durch die Perfusion des Transplantats bei der Organentnahme mit 4°C kalter Konservierungslösung eingeleitet wird. Die gebräuchlichen Konservierungslösungen für die Lagerung abdominaler Organe stellen die University of Wisconsin (UW) und die von Bretschneider entwickelte Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate (HTK) – Lösung dar [29]. Der kalten Ischämie folgt die gemischte warme Ischämie, die mit Einbringen des Transplantats in den Empfängersitus beginnt und mit der Reperfusion nach Beendigung der vaskulären Anastomosen endet.

Gemeinsam ist den beiden Ischämieformen der pathophysiologische Zellschädigungsmechanismus. Der Verlust der Sauerstoffversorgung nach der Unterbrechung der Blutzufuhr bei Organentnahme zwingt zur Umstellung von aerober auf anaerobe Energiebereitstellung. Diese wird durch Glykolyse sichergestellt, welche im Gegensatz zur aeroben Energiegewinnung jedoch nur noch 2 mol ATP pro mol Glukose liefert. Das aus Pyruvat anfallende Lactat kann in Abwesenheit von Sauerstoff nicht weiter verstoffwechselt werden, so dass eine Gewebeacidose resultiert. Mit Verschiebung des Säure-Basen-Haushaltes aus dem optimalen in den sauren pH-

Bereich, kommt es zur Abnahme der Aktivitäten der Glykolyseenzyme und schließlich zum Ausfall der Glykolyse [30]. Der daraus resultierende Zusammenbruch der Energieversorgung durch ATP führt zum Ausfall ATP-abhängiger Prozesse [31]. Dies führt unter anderem zum Stillstand der ATP-abhängigen Zellmembranpumpen, wie z.B. der Natrium-Kalium-ATPase [32], in deren Folge die transmembranären Gradienten von Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium verloren gehen [33]. In der kalten Ischämie führt alleine die Abkühlung des Gewebes zum Stillstand der ATPasen mit daraus resultierender Aufhebung der Elektrolythomeostase beidseits der Membran [34, 35]. Mit dem Einstrom von extrazellulärem Natrium in die Zelle und ansteigendem intrazellulären osmotischen Druck folgt Wasser in die Zelle mit konsekutiver Zellschwellung und damit einhergehender Funktionsabnahme [36, 37]. Des Weiteren werden Protein- und Zytoskelettintegrität durch Proteasen und Phospholipasen gestört, die im Rahmen des passiv intrazellulär ansteigenden Calciums aktiviert werden [38-41]. Schließlich führt die Oxidation von Proteinen der Zellmembran zu Membranintegritätsstörungen, die mit gesteigerter Permeabilität und Funktionsverlust einhergehen [42, 43] und einen besonders kritischen Punkt in der Ischämiephase darstellen [44, 45]. Wird eine spezifische Ischämietoleranz überschritten, so folgt nach Zusammenbruch des Zellstoffwechsels das Absterben der hypoxischen Zelle. Bis zu einem bestimmten Zeitpunkt sind jedoch die auftretenden Schäden durch einsetzende Reperfusion reversibel [46].

Hier unterscheiden sich die beiden Ischämieformen bei der Lebertransplantation ganz wesentlich. Das Ischämietoleranzintervall bei der kalten Ischämie kann aufgrund des reduzierten Stoffwechsels bis zu 16 Stunden ohne erkennbare Spätfolgen betragen [47]. Hingegen treten bei der warmen Ischämie in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren schon nach Ischämiezeiten >30 Minuten Schäden bzw. eine eingeschränkte Mikrozirkulation nach Reperfusion auf [48, 49].

Ein weiterer wichtiger Unterschied beider Ischämieformen besteht im Schädigungsmuster der Leberzellpopulationen, wie Schön et al. [50] und Ikeda et al. [34] zeigten. Während Hepatozyten vor allem durch warme Ischämie geschädigt werden, sind Nicht-Parenchymzellen, insbesondere die Sinusendothelzellen der Gefäße, gegenüber der kalten Ischämiephase sensibel. Auch McKeown et al. [51] und Caldwell-Kenkell et al. [52] wiesen eine zeitlich frühere Schädigung von Sinusendothelzellen im Vergleich zu Parenchymzellen an Rattenlebern unter kalter Ischämie nach.

### **5.2.2 Die Phase der Reperfusion**

Die Phase der Reperfusion besitzt einen zentralen Stellenwert im Transplantationsprozess. Das reperfundierte Gewebe wird wieder mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt. Angefallene toxische Metabolite werden abtransportiert und es stellt sich wieder ein normaler pH-Bereich ein. Die Wiederaufnahme von Enzym- und Zellfunktionen setzt ein. Somit ist die Reperfusion essentiell für die Erholung und Funktionsaufnahme des Lebergewebes.

Andererseits triggert die Reperfusion jedoch eine Vielzahl weiterer Schädigungsmechanismen. McCord konnte eine vermehrte Bildung toxischer Sauerstoffradikale während der Phase der Reoxygenierung nachweisen [53]. Membranschäden mit veränderten Permeabilitäten führen zu Elektrolytverschiebungen, die zu Veränderungen der elektrischen Potentiale über der Zell- sowie Mitochondrienmembran führen, wodurch zelluläre Enzymaktivitäten beeinträchtigt werden [54]. Die Aktivierung von Kupffer'schen Sternzellen führt zur Freisetzung von Zytokinen wie Tumornekrosefaktor (TNF), Interleukin-1 (IL-1) und weiteren chemotaktischen Substanzen [55]. Diese führen zu einer Leukozytenakkumulation und zu deren Aktivierung, welche wiederum eine vermehrte Freisetzung von Proteasen, Zytokinen und Sauerstoffradikalen zur Folge hat. Diese schädigen schließlich die Hepatozyten und insbesondere auch die Nicht-Parenchymzellen, wie zum Beispiel die Sinusendothelzellen [56-58]. IL-1 und TNF- $\alpha$  sowie Anoxie stimulieren die Freisetzung von Endothelinen aus den Endothelzellen, welche eine stark vasokonstriktive Wirkung besitzen [59, 60].

Zusammenfassend zeigt sich, dass neben der Schädigung der Hepatozyten besonders die Schädigung der Sinusendothelzellen, die Leukozytenakkumulation und die osmotisch bedingte Zellschwellung im Vordergrund stehen.

### **5.3 Störung der hepatischen Mikrozirkulation durch Ischämie- und Reperfusionsschäden**

Ischämie- und Reperfusionsmechanismen induzieren im Wesentlichen zwei Phänomene, welche die Mikrozirkulation beeinflussen. Menger et al. untersuchten diese Phänomene an quergestreifter Muskulatur und bezeichneten diese als „no-reflow“ und „reflow-paradox“ [61-63]. Das initiale Reperfusionsversagen von Kapillaren im

postischämischen Gewebe wird durch folgende Pathomechanismen hervorgerufen. Im Vordergrund steht eine Schwellung von Parenchym- und Endothelzellen [64-66], welche durch intrazellulären Natrium- und Wassereinstrom hervorgerufen wird [67]. Die Verkleinerung des Kapillarquerschnittes führt nach dem Hagen-Poiseuille-Gesetz zu einem stark erhöhtem Reperfusionswiderstand [64]. Ein erhöhter Hämatokrit in den Kapillaren, hervorgerufen durch vermehrte Extravasion von Elektrolyten und Wasser, führt ebenfalls zu einer Beeinträchtigung der Fließeigenschaften und damit zu einem erhöhten Widerstand [68].

Auch ein erhöhter Widerstand in den postkapillären Venolen, hervorgerufen durch Leukozytenadhäsionen, führt zur Beeinträchtigung der kapillaren Perfusion [62]. Dem gegenüber stehen die Pathomechanismen des sogenannten „reflow-paradox“, der beeinträchtigten Mikrozirkulation bereits erfolgreich reperfundierter Kapillaren [63]. Während der Reperfusion insbesondere durch Xanthin-Oxidase gebildete reaktive Sauerstoffradikale besitzen eine Schlüsselstellung in der Initiierung von Leukozyten-Endothelzell-Interaktionen und gesteigerter mikrovaskulärer Permeabilität [57, 69, 70]. Die gebildeten Sauerstoffradikale induzieren die Bildung von membranständigen Proteinen GMP-140 (P-Selektin), E-Selektin, ICAM-1 und ICAM-2 an der Oberfläche der kapillaren Endothelzellen [71] sowie LECAM-1 (L-Selektin),  $\beta$ 2-Integrine, LFA-1 und Mac-1 an den Leukozytenzellmembranen [72]. Über diese Proteine kommt es zu Wechselwirkungen zwischen Leukozyten- und Endothelzellen [70], die in einer Sequenz von Margination, Leukozytenrollen und vollständiger Adhäsion ablaufen [73]. Durch anschließende transendotheliale Migration [70] kommt es zu einer massiven Leukozyteninfiltration in das hepatische postischämische Parenchym. Dies führt zu hepatozellulärer Nekrose und erhöhten Alanin-Aminotransferase Plasmawerten [74]. Auch Entzündungsmediatoren wie z.B. PAF (platelet activating factor), TNF- $\alpha$  und IL-1 werden von aktivierten Leukozyten freigesetzt. Diese wirken wiederum chemotaktisch und aktivieren weitere Leukozyten. Sie steigern auch die Kapillarpermeabilität [8, 63]. Intravitalmikroskopische Studien von Vollmar et al. [7] konnten die Extravasion von Leukozyten aus den Sinusoiden und postsinusoidalen Venolen zeigen. Eine direkte Korrelation von ALT ( $r=0,76$ ) und AST ( $r=0,65$ ) sowie eine indirekte Korrelation der Gallenflüssigkeitsproduktion ( $r= -0,62$ ) und der Zahl der Leukozytenadhäsionen in postsinusoidalen Venolen wurde nachgewiesen. Keine Korrelation bestand hingegen zu der Zahl der in den Lebersinusoiden adhärenierten Leukozyten.



Einen weiteren Schwerpunkt in der Induzierung von Ischämie-Reperfusionsschäden stellen die Endotheline dar. Sie werden vermehrt aus dem Endothel durch Hypoxie, Cytokine, Endotoxine, Flussstörungen und Scherkräfte freigesetzt. Erhöhte Plasmalevel konnten nach Lebertransplantationen beim Menschen [75] und auch im Rattenmodell [76] nachgewiesen werden. Durch Bindung an Endothelinrezeptoren an Sinusendothel- und Itozellen wirken sie vasokonstriktiv [18, 77]. An von Kupffer'schen Sternzellen und Monozyten induzieren sie die Freisetzung von Zellmediatoren. In Hepatozyten verstärken sie die Glykogenolyse [78]. Uhlmann et al. [76] und Zhang et al. [77] konnten den bedeutenden Einfluss von Endothelinen bei der Entstehung von Ischämie- und Reperfusionsschäden im Rattenmodell nachweisen und deren I/R schädigende Wirkung durch den ET-Rezeptorenblocker Bosentan reduzieren. Der Einfluss von ET wurde in weiteren ischämischen Organmodellen von Herz [79], Niere [78] und Leber [59] dargestellt.

#### **5.4 Einfluss der durch Ischämie und Reperfusion alterierten hepatischen Mikrozirkulation auf die klinische Transplantatfunktion**

Die durch Ischämie und Reperfusion attenuierte initiale hepatische Mikrozirkulation nimmt entscheidenden Einfluss auf die postoperative Transplantatfunktion. Die initiale Galleflüssigkeitsproduktion als Marker der Transplantatfunktion steht im Zusammenhang mit der post-I/R hepatischen Mikrozirkulation [80-83]. Auch eine verbesserte Prothrombin-, Fibrinogen- und Faktor V- Synthese scheinen in Zusammenhang mit einer durch ACE-Blocker verbesserten initialen hepatischen Mikrozirkulation zu stehen [81]. Klar et al. [84] untersuchten mittels Thermodiffusion die hepatische Mikrozirkulation bei sieben Lebertransplantationspatienten über einen Zeitraum von sieben Tagen. Bei vier Patienten mit normaler Transplantatfunktion stellte sich innerhalb der ersten 12 Stunden nach Transplantation wieder eine ausreichende Leberperfusion mit 85 - 93 ml/100 g/min ein. Im Gegensatz dazu nahm die Perfusion bei einem Patienten mit primärer Nichtfunktion des Transplantates kontinuierlich ab. Bei einem weiteren Patienten wurde ein Abfall der Perfusion 48 Stunden vor Transplantatversagen am 7. postoperativen Tag gemessen. In einer Folgestudie [85] wurden 43 Patienten mittels Thermodiffusion evaluiert. Eine signifikant erniedrigte initiale hepatische Mikrozirkulation wurde bei 15 Patienten mit früher

Transplantatabstoßung bei gleichzeitigem Transaminasenanstieg innerhalb der ersten 36 Stunden gemessen.

Land, Schneeberger, Messmer et al. [86-92] zeigten in einer prospektiven Doppelblindstudie an Nierentransplantationspatienten, die mit 200mg humaner rekombinanter Superoxid-dis-Mutase (rh-SOD) versus Placebo behandelt wurden, den Einfluss initialer Mikrozirkulation, insbesondere der Phase der Reperfusion, auf immunologische Prozesse. Es konnte der Einfluss I/R induzierter Schäden auf frühe, spezifische posttransplantative Immunreaktionen wie akute Abstoßungsperioden, früher, irreversibler immunologischer Transplantatverlust und chronisches Transplantatversagen gezeigt werden. Durch die Gabe von rh-SOD konnten die durch freie Sauerstoffradikale induzierten Reperfusionsschäden minimiert werden. Dies führte direkt zu einer signifikanten Reduktion von akuten Abstoßungsperioden [89], frühem irreversiblen immunologischen Transplantatverlust und chronischer Abstoßung [87]. Es ist anzunehmen, dass I/R- Schäden zu einer vermehrten Major Histocompatibility Complex (MHC)- und Adhäsionsmoleküle- Expression, gesteigerter Zytokinfreisetzung und Phagozytoseaktivität führen, in deren Folge es zu einer gesteigerten Host-Immunantwort gegen das Transplantat mit den daraus resultierenden Abstoßungsreaktionen kommt [92]. I/R induzierte akute Endothelschäden und chronisch-repetitive, immuninduzierte (z.B. durch Antikörper) Endothelverletzungen können zu einer späten Graft-Vasopathie führen [92].

### **5.5 In-vivo Modelle zur hepatischen Mikrozirkulationsuntersuchung**

Zur Messung der hepatischen Mikrozirkulation wurden verschiedene Verfahren klinisch eingesetzt. Ein invasives Verfahren ist die Thermodiffusion, bei der während der Transplantationsoperation eine Messsonde in das Transplantat eingebracht und über die folgenden postoperativen Tage die Perfusion quantitativ aufgezeichnet wird. Nach Abschluss der Überwachung erfolgt die transkutane Entfernung. Klar et al. [84] ermittelten bei normaler Transplantatfunktion Perfusionswerte zwischen 85 - 93 ml/100g Leberparenchym/min. Laser Doppler Flowmetry als nicht-invasive Messmethode wurde sowohl im Tiermodell [93-96] als auch klinisch zur hepatischen Mikrozirkulationsmessung während der Transplantation [97, 98] eingesetzt. Mit der Inert Gas Clearance Methode, bei der die Perfusionsmessung durch Berechnung der hepatischen Clearance des Isotops <sup>133</sup>Xe erfolgt, wurden beim Hund und Menschen

normale Perfusionswerte zwischen 100 – 130 ml/100g Leberparenchym/min gemessen [99]. Diesen indirekten Messverfahren sind die direkt bildgebenden Messverfahren, wie z.B. die Intravitalmikroskopie (IVM) zur Darstellung und Quantifizierung der hepatischen Mikrozirkulation weit überlegen. Sie erlauben eine direkte Beurteilung der Perfusion in den einzelnen Sinusoiden, Observierung von Leukozyteninteraktionen und Quantifizierung einzelner mikrozirkulatorischer Parameter wie die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV = red blood cell velocity), funktionale sinusoidale Dichte (FSD), der sinusoidale Durchmesser (D) sowie der intersinusoidale Abstand (ISD). Die IVM ermöglichte im Tiermodell, insbesondere im Rattenmodell, eine intensive Erforschung der hepatischen Mikrozirkulation und deren Beeinflussung unter I/R-Bedingungen im Transplantationsprozeß [6, 7, 100-106]. Der Einsatz phototoxischer Fluoreszenzfarbstoffe sowie die apparativen Eigenschaften beschränken jedoch die Anwendung der IVM auf das Tiermodell (mit Ausnahme von lokalen dermatologischen Untersuchungen) [100].

Bildgebende Verfahren, deren Anwendung am Menschen möglich ist, beschränken sich auf die Kapillaroskopie [107, 108] und Laser-scanning confocal imaging [109]. Diese Techniken lassen sich jedoch nur an leicht zugänglichen Orten, wie Haut, Nagelfalz und Konjunktiva anwenden, wobei nur die Kapillaroskopie eine mikroskopische Darstellung erlaubt.

Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPSI) ist eine 1999 von Groner et al. [110] vorgestellte neue Methode zur Bildgebung und Quantifizierung der Mikrozirkulation. OPSI ist nicht-invasiv, arbeitet mit polarisierten Lichtphotonen und kommt daher ohne toxische Kontrastmittel aus. Die in einem kleinen, mobilen Messkopf untergebrachte Messeinheit erlaubt den klinischen Einsatz am Menschen [111]. Mathura et al. [112] verglichen mikrozirkulatorische Parameter des humanen Nagelfalzgewebes, aufgenommen mit OPSI mit der konventionellen Kapillarmikroskopie. Es wurden bei beiden Messmethoden vergleichbare Messwerte bei signifikant besserem Kontrast bei der OPSI-Methode ermittelt. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Sinitsina und Messmer [113, 114] bei Messungen der Mikrozirkulationsparameter am Muskel im Hamstermodell. Langer et al. [115] validierten OPSI versus IVM zur Messung hepatischer Mikrozirkulationsparameter am Rattenmodell. Die mit beiden Methoden gemessenen Parameter RBCV, D, und FSD korrelierten signifikant und zeigten eine gute Übereinstimmung nach der Bland-Altman-Analyse. Die Messungen wurden sowohl

für physiologische Normalwerte als auch unter Reperfusionsbedingungen nach 20 Minuten warmer Ischämie durchgeführt.

Zur klinischen Analyse der humanen Mikrozirkulation wurde OPSI zur Messung von Colon- und Rektummukosa [111], Gehirn [111, 116, 117], Nagelfalzhaut [112], transkutan an Neugeborenen [118, 119], kutan zum Überwachen der Wundheilung [120], bei Verbrennungswunden [121], sublingual an Intensivpatienten [122] und an der Konjunktiva [123] eingesetzt.

## **6 Ableitung der Aufgabenstellung**

Die intravitale Fluoreszenzmikroskopie im Ratten- und Mäusemodell hat entscheidend zum Verständnis der hepatischen Mikrozirkulation sowie deren Beeinflussung unter I/R-Bedingungen beigetragen. Mit der Einführung von OPSI ist eine neue Methode gegeben, die eine Untersuchung der humanen Mikrozirkulation, insbesondere auch von soliden Organen, gefahrlos ermöglicht. Der Vergleich von IVM und OPSI im Tiermodell bewies die Qualität, Präzision und Zuverlässigkeit dieser Methode, ausdrücklich auch zur Beurteilung der hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen und I/R-Bedingungen [110, 113-115].

### **6.1 Zielsetzung der Dissertation**

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die klinische Evaluierung der Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPSI) Technik zur visuellen Darstellung und quantitativen Messung der humanen hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen und im Rahmen der Lebertransplantation. Die spezifischen Patientengruppen mit den unterschiedlichen Transplantationsmerkmalen orthotope full-zise Lebertransplantation, Leberlebendtransplantation mit simultaner Reperfusion und mit sequentieller Reperfusion sollen in Hinblick auf mikrozirkulatorische Parameter miteinander quantitativ verglichen werden. Des Weiteren werden die mikrozirkulatorischen Messdaten mit laborchemischen und transplantationsspezifischen Parametern verglichen, um Einflussfaktoren auf I/R- Schäden und die hepatische Mikrozirkulation zu eruieren.

### **6.2 Ableitung der Fragestellungen**

1. Ermöglicht die Anwendung von OPSI eine qualitative hochwertige Bildgebung und quantitative Messung der hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen?
2. Ermöglicht die Anwendung von OPSI eine qualitative hochwertige Bildgebung und quantitative Messung der hepatischen Mikrozirkulation im Rahmen der Lebertransplantation von Organen hirntoter Organspender?

3. Ermöglicht die Anwendung von OPSI eine qualitative hochwertige Bildgebung und quantitative Messung der hepatischen Mikrozirkulation im Rahmen der Leberlebendspende und –transplantation?
4. Sind die gemessenen Daten Erythrozytenflußgeschwindigkeit (RBCV), funktionelle sinusoidale Dichte (FSD), sinusoidaler Durchmesser(D), intersinusoidaler Abstand (ISD) normal verteilt und homogen?
5. Korrelieren die gemessenen Mikrozirkulationsparameter nach full-size und Leberlebendtransplantation mit den Schädigungs- und Funktionsparametern, kann anhand des Ausmaßes der mikrozirkulatorischen Einschränkung eine Prädiktion im Hinblick auf die zu erwartende Organfunktion abgeleitet werden?
6. Welchen Einfluss nehmen transplantationsspezifische Parameter, wie z.B. die kalte Ischämiezeit, portale Klemmzeit, Dauer der anhepatischen Phase und Reperfusionsequenz auf die mikrozirkulatorischen Parameter?

## **7 Patienten und Methoden**

### **7.1 Patientengruppen und klinische Charakteristika**

#### **7.1.1 Übersicht über die Patientengruppen**

Die Untersuchungen erfolgten an Patienten in drei verschiedenen Gruppen:

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

Postischämische Mikrozirkulationsveränderungen wurden in der Gruppe II an 29 Leber-Lebendempfängern untersucht. Dabei konnte dem Organempfänger der jeweilige Spender im Sinne einer Vorher-Nachher Messung zugeordnet werden. Innerhalb der Empfängergruppe II erfolgte die Aufteilung in Untergruppen. In der Gruppe IIA erfolgte die Reperfusion durch Freigabe des portalvenösen Blutflusses, der mit einem zeitlichen Abstand von bis zu 30 Minuten die Freigabe der Leberarterie nach Beendigung der entsprechenden Anastomose folgte. In der Gruppe IIB wurde der Blutfluss der Pfortader und der Leberarterie auf Kosten einer verlängerten anhepatischen Phase simultan freigegeben.

In der Gruppe III erfolgte die Untersuchung an 27 Organempfängern, die eine full-size Leber eines hirntoten Organspenders erhielten. Da in dieser Gruppe aus logistischen Gründen die initiale Basisperfusion des später transplantierten Organs nicht gemessen werden kann, wurden die ermittelten Reperfusionparameter den physiologischen Parametern einer Kontrollgruppe von 32 Patienten gegenübergestellt, die sich einer Leberteilektomie zur Leberlebendspende unterzogen.

Die intraoperativ durchgeführten Mikrozirkulationsmessungen wurden ausnahmslos in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie, Leitung Prof. Peter Neuhaus, Charité, Campus Virchow-Klinikum, Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin, durchgeführt. Eine Aufklärung der Patienten über die Teilnahme an der Studie sowie die Erfassung patientenbezogener Daten und die Erläuterung der Methodik der Untersuchung wurde durchgeführt und eine schriftliche Einverständniserklärung aller teilnehmenden Patienten eingeholt. Das Studienprotokoll

wurde nach den ethischen Richtlinien der Erklärung von Helsinki aus dem Jahr 1975 erarbeitet und durch das lokale Ethikkomitee der Humboldt Universität Berlin genehmigt.

## **7.1.2 Gruppe I - Evaluierung der Untersuchungsmethodik**

### **7.1.2.1 Demographische Parameter**

Die Gruppe I umfasste 11 Patienten, die sich einer Leberteileresektion im Rahmen einer Leberlebendspende unterzogen. Das mittlere Alter betrug  $44,2 \pm 15$  Jahre, das mittlere Körpergewicht  $64 \pm 9$  kg. Das Verhältnis männlich/weiblich betrug 3/8.

### **7.1.2.2 Hämodynamische und assoziierte Parameter**

Die hämodynamischen Parameter Herzfrequenz, Blutdruck, zentraler Venendruck sowie die Blutgasparameter und Hämoglobinwerte wurden während der gesamten Untersuchungsperiode aufgezeichnet.

### **7.1.2.3 Operationstechnik der Leberteileresektion zur Leberlebendspende**

Die Operation der Leberteileresektion zur Leberlebendspende wurde in den Gruppen IIA und IIB nach standardisierten Richtlinien durchgeführt [124, 125]. Es wurden je nach transplantationsspezifischen Gegebenheiten entweder eine rechtsseitige Hemihepatektomie oder alternativ eine linkslaterale Resektion vorgenommen.

Die Eröffnung des Abdomens wurde mittels querer Oberbauchlaparotomie und vertikaler Schnittführung in der Medianen bis zum Xyphoid durchgeführt. Nach Cholezystektomie erfolgte eine intraoperative Cholangiographie mittels Sondierung des Ductus cysticus zur Darstellung der Gallengangsbifurkation. Anschließend erfolgte die Darstellung der A. hepatica sowie der Pfortader und ihrer Bifurkationen in linken und rechten Ast. Nachfolgend wurde die Bifurkation des Ductus choledochus in den linken und rechten Gallengang präpariert. Nach der Auslösung der Leber aus dem Halteapparat (Spaltung des Lig. dextrum oder sinistrum) erfolgte ihre Ablösung von der V. cava. Nach Darstellung der mittleren und rechten Lebervene wurde die rechte Lebervene umfahren. Bei der linkslateralen Resektion erfolgte korrespondierend die Darstellung der linken Lebervene. Anschließend wurde mittels intraoperativer



Sonografie der intraparenchymatöse Verlauf der Lebervenen verifiziert und die Resektionslinie mit dem Elektrokauter auf der Leberoberfläche markiert. Die Parenchydissektion erfolgte mittels Anwendung eines Cavitron Ultrasonic Surgical Aspirator (CUSA, Valleylab) und subsequenter Blutstillung mittels monopolarer und bipolarer Elektrokoagulation. Die Versorgung kleiner Gallengangsäste, Arterien und Venen geschah mittels Clips und Ligaturen. Schließlich wurde der die Lebersegmente (anatomisch rechts oder linkslateral) drainierende Gallengang abgetrennt und choledochuswärts mit PDS vernäht. Vor der definitiven Präparation und Durchtrennung der Blutgefäße wurde der Lebend-Spender mit 5000IE heparinisiert. Es schloss sich die Entnahme der Transplantatsegmente (anatomisch rechts oder linkslateral) nach Identifizierung und Durchtrennung der versorgenden Leberarterie, des Pfortaderastes sowie der entsprechenden Lebervene an. Der entnommene Leberlappen wurde unverzüglich mit Perfusionslösung (UW oder HTK) arteriell und portalvenös perfundiert und die Gallengänge gespült. Unter vollständig blutrockenen Verhältnissen wurde die Resektionsfläche mittels Fibrinsprühkleber versiegelt. Nach Einbringen von Silikondrainagen erfolgte der schichtgerechte Bauchdeckenverschluss.

### **7.1.3 Gruppe IIA - sequentiell reperfundierte Leberlebendtransplantationen**

#### **7.1.3.1 Demographische und transplantationsspezifische Parameter**

Die demographischen Daten der Gruppe IIA mit sequentiell reperfundierten Leberlebendtransplantationen sowie die Diagnosen der Transplantationsindikation sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

**Tabelle 1: Demographische und transplantatspezifische Daten der Patientengruppe IIA – sequentielle reperfundierte Leberlebendtransplantation**

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

**Tabelle 2: Diagnosen der Patienten der Gruppe IIA – sequentielle reperfundierte Leberlebendtransplantation**

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

### **7.1.3.2 Hämodynamische und assoziierte Parameter**

Die hämodynamischen Parameter Herzfrequenz, Blutdruck, zentraler Venendruck sowie die Blutgasparameter und Hämoglobinwerte wurden während der gesamten Untersuchungsperiode aufgezeichnet.

### **7.1.3.3 Operationstechnik der sequentiell reperfundierten Leberlebendtransplantation**

Die operative Durchführung erfolgte nach der üblichen, standardisierten Technik [126-128]. Bei der Donoroperation wurde eine Lobus dexter - Resektion bei 12 Patienten, bzw. eine linkslaterale Resektion bei 2 Patienten durchgeführt. Bei der Empfängeroperation erfolgte die Eröffnung des Abdomens mittels querer Oberbauchlaparatomie unter Verlängerung in der Medianen bis zum Xyphoid. Es folgte die Mobilisierung der erkrankten Leber aus dem Halteapparat. Anschließend wurde die V. cava inferior suprahepatisch umfahren. Sodann erfolgte die Darstellung des Ductus choledochus, der Arteria hepatica propria und communis, des Abganges der Arteria gastroduodenalis sowie der Pfortader im Ligamentum gastroduodenale. Anschließend erfolgte das Absetzen des Gallenganges in Höhe der Hepaticusgabel und sodann die zirkuläre Präparation der infrahepatischen Vena cava inferior. Schließlich erfolgte das Einbringen des veno-venösen Bypasses bei n = 8 Patienten mittels Kanülierung der Pfortader, der V. saphena magna sowie der V. brachialis und Anfahren des Bypass mit einem Fluss von 2 l/min. Bei n = 6 Patienten wurde die Pfortader direkt geklemmt. Bei supra- und infrahepatisch abgeklemmter V. cava erfolgte die schrittweise Exzision der erkrankten Leber unter Erhalt der retrohepatischen V. cava mit Absetzen aller Lebervenen zwischen Klemmen und anschließender Übernähung der linken und mittleren Lebervenenmündung. Vor Absetzen der rechten Lebervenen erfolgte tangentiales Ausklemmen der Vena cava inferior mittels Satinsky Klemme, so dass eine Restperfusion erhalten bleibt. Es folgte das Einnähen des Transplantates mittels fortlaufender, nicht-resorbierbarer (Prolene 4.0) End-zu-Seit - Anastomose der Transplantat-Lebervene an das Cava Ostium. Anschließend folgten die Dekanülierung der Pfortader und die fortlaufende termino-terminale Anastomose der Spender- und Empfängerpfortader (Prolene 5.0) und anschließende Freigabe des Blutstroms über die Pfortader. Nach Ablassen von ca. 300 ml Perfusat gegen die noch verschlossene

Satinsky-Klemme aus der Lebervenenanastomose erfolgte zunächst die Freigabe des venösen Abstroms aus der Leber in die Vena cava. Anschließend wurde die arterielle Anastomose End-zu-End bei n = 12 Patienten bzw. durch direkten Aortenanschluss bei n=2 Patienten angelegt und danach reperfundiert. Der Gallengang wurde nach Einlage eines T-Drains durch termino-terminale Anastomose (n=10) oder mittels einer Hepatojejunostomie (n=4) rekonstruiert. Nach vollständiger Entfernung des Bypasses, Blutstillung und Einlage von Drainagen erfolgte der schichtgerechte Bauchdeckenverschluss.

#### 7.1.4 Gruppe IIB - simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen

##### 7.1.4.1 Demographische und transplantationspezifische Parameter

Die demographischen Daten der Gruppe IIB – simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen sowie die Diagnosen der Transplantationsindikation sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

**Tabelle 3: Demographische und transplantatspezifische Daten der Gruppe IIB – simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen**

Parameter	Simultan reperf. Leberlebendspenden
Anzahl	15
Geschlechtsverteilung m / w	5 / 10
Alter (a)	42,4 ± 17,8 (0,66 – 70)
Gewicht Empfänger (kg)	61,5 ± 17,7
Transplantatgewicht (g)	760 ± 214
Transplantat-Körpergewicht-Ratio	1,316 ± 0,392
Ischämiezeit des Transplantats (min)	94 ± 40
Anhepatische Phase (min)	68 ± 26
Konservierungslösung UW / HTK	0 / 15
Menge Konservierungslösung (ml)	2687 ± 550
Blutgruppen- Kompatibilität	ABO-System ident. / nicht ident.
	Rh-System ident. / nicht ident.
	11 / 4
	13 / 2

**Tabelle 4: Diagnosen der Patienten der Gruppe IIB - simultan reperfundierte Leberlebend-transplantation**

Diagnosen der Transplantationsindikation	Patientenzahl	Anteil in %
Hepatitis C	4	26,7
Hepatozelluläres Carcinom bei Hepatitis B	2	13,3
Klatskin-Tumor	2	13,3
Cholangiozelluläres Karzinom	1	6,7
Autoimmun-Hepatitis	1	6,7
Budd-Chiari-Syndrom	1	6,7
Primär sklerosierende Cholangitis	1	6,7
Ethanol-toxische Leberschädigung	1	6,7
Morbus Byler	1	6,7
Polyzystische Leber- u.Nierendegeneration Potter III	1	6,7

#### **7.1.4.2 Hämodynamische und assoziierte Parameter**

Die hämodynamischen Parameter Herzfrequenz, Blutdruck, zentraler Venendruck, sowie die Blutgasparameter und Hämoglobinwerte wurden während der gesamten Untersuchungsperiode aufgezeichnet.

#### **7.1.4.3 Operationstechnik der simultan reperfundierten Leberlebend-transplantation**

Die exakte Donoroperationsausführung ist im Abschnitt 7.1.2.3. beschrieben. Die Empfängeroperation erfolgte im Prinzip wie bei der in Abschnitt 7.1.3.3. dargestellten sequentiell reperfundierten Lebertransplantation. Jedoch erfolgte in dieser Gruppe nach Rekonstruktion der Pfortader direkt die Anastomosierung der Arteria hepatica mit anschließender gleichzeitiger (simultaner) Reperfusion beider Gefäße.

## 7.1.5 Gruppe III – Orthotope Lebertransplantationen (OLT<sub>X</sub>)

### 7.1.5.1 Demographische und transplantationsspezifische Parameter

Die Gruppe III umfaßt 27 Patienten, bei denen eine orthotope Lebertransplantation notwendig wurde. Aufgrund der logistisch aufwendigen, europaweiten Organvermittlung durch EUROTRANSPLANT ist eine Basismessung der Mikrozirkulation mittels OPSI vor Organentnahme nicht möglich. Daher werden die Messdaten der Reperfusion der OLT<sub>X</sub> – Gruppe mit den physiologischen Messdaten einer Kontrollgruppe von 32 gesunden Leberlebendspendern verglichen. Die folgenden Tabellen zeigen die demographischen Daten und die transplantatspezifischen Daten der Gruppe III – OLT<sub>X</sub>.

**Tabelle 5: Demographische Daten der Patientengruppe III - Orthotope Lebertransplantation**

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

**Tabelle 6: Transplantatspezifische Daten der Patientengruppe III - Orthotope Lebertransplantation**

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

Die Diagnosen, die zur Indikation Lebertransplantation führten, sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 7: Diagnosen der Patientengruppe III – Orthotope Lebertransplantation**

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

**Tabelle 8: Diagnosen der Organspender für die orthotopen Lebertransplantationen**

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

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

**Tabelle 9: Hämodynamische und klinische Parameter bei der Organentnahme der Spender**

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



### **7.1.5.2 Hämodynamische und assoziierte Parameter**

Die hämodynamischen Parameter Herzfrequenz, Blutdruck, zentraler Venendruck sowie die Blutgasparameter und Hämoglobinwerte wurden während der gesamten Untersuchungsperiode aufgezeichnet.

### **7.1.5.3 Operationstechnik der orthotopen Lebertransplantation**

Die operative Durchführung erfolgte nach der üblichen, standardisierten Technik der orthotopen Lebertransplantation [129-132] mit Komplettersatz der V. cava, Einsatz des veno-venösen Bypasses sowie simultaner antegrader Reperfusion der Organe.

Die Eröffnung des Abdomens wurde mittels querer Oberbauchlaparotomie unter Verlängerung in der Medianen bis zum Xyphoid durchgeführt. Nach Anschlingen der suprahepatischen V. cava erfolgte die Darstellung der Ligamentstrukturen. Nach Darstellung, Ligatur und Durchtrennung der A. cystica und des Ductus cysticus erfolgte die Darstellung der A. hepatica propria mit anschließender selektiver Ligatur der A. hepatica sinistra und dextra. Es folgte die Darstellung der A. hepatica communis, der A. gastroduodenalis sowie der Pfortader. Nach hilusnaher Durchtrennung des Gallenganges wurde dessen Mobilisation mit umliegendem Gewebe vorgenommen. Nach Ausklemmen der V. portae und Installation eines veno-venösen Bypasses mit Hilfe von Bypasskanülen in der V. portae sowie der V. saphena magna und V. axillaris erfolgte das Anfahren des Bypasses. Diese Vorgehensweise erfolgte bei allen 27 Patienten. Nach Durchtrennung der Pfortader wurde die infrahepatische V. cava ausgeklemmt und abgesetzt, anschließend analog dazu die suprahepatische V. cava. Der Hepatektomie schloss sich die eingehende Blutstillung im Retroperitoneum an. Nach Einbringen der transplantierten Leber wurden zunächst die Anastomosen der suprahepatischen V. cava fortlaufend mit Prolene 3-0 und der infrahepatischen V. cava mit Prolene 4-0, ebenfalls fortlaufend angelegt. In Abhängigkeit von der anatomischen Situation wurde die arterielle Anastomose des Spender-Truncus coeliacus mit der A. hepatica communis des Empfängers mittels fortlaufender 7-0 Prolenenahrt hergestellt. Nach End-zu-End Anastomose der V. portae mit fortlaufender 6-0 Prolenenahrt fand die simultane Reperfusion unter Ablassen von ca. 500 ml Flush-Volumen statt mit nachfolgendem endgültigen Verschluss der infrahepatischen V. cava. Schließlich erfolgte die Dekanülierung und Entfernung des Bypasses. Anschließend wurde eine

typische Seit-zu-Seit Gallengangsanastomose mit fortlaufendem 5-0 PDS-Faden unter Schienung einer T-Drainage angelegt. Nach nochmaliger Blutstillung und Instillation von Fibrinkleber erfolgte der schichtgerechte Bauchdeckenverschluss.

## **7.2 Anästhesieverfahren**

### **7.2.1 Anästhesie bei der Spender-Operation zur Leberlebendspende**

Die Patienten wurden mit 7,5 mg Midazolam p.o. prämediziert. Die Einleitung erfolgte mit 4-6 mg/kg KG Thiopental, 0,1 mg Fentanyl und 0,1 mg/kg KG Vecuronium oder Cisatracurium. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte inhalativ mit einem Gasgemisch mit  $FiO_2 = 0,4$ , 50-70 vol% Distickstoffmonoxid, 4-6 vol% Desfluran und Fentanyl nach Bedarf. Zur optimierten intraoperativen hämodynamischen Überwachung wurden arterielle und zentralvenöse Katheter verwendet. Normovolämie und ein zentraler Venendruck von nicht mehr als 5 mmHg während der Leberparenchydissektion wurden angestrebt. Alle Patienten wurden direkt nach Beendigung der Operation extubiert und zur weiteren Überwachung auf die Intensivstation verlegt.

### **7.2.2 Anästhesie bei der Empfänger-Operation zur orthotopen und Lebend - Lebertransplantation**

Unter Berücksichtigung der reduzierten metabolischen Stoffwechsellage erfolgte keine orale Prämedikation. Die Narkoseeinleitung erfolgte als rapid sequence induction mit 4-6 mg/kg KG Thiopental, 1 mg/kg cis-Atracurium und 1,5 mg/kg KG Succinylcholin und folgender endotrachealer Intubation. Die mechanische Beatmung erfolgte im IPPV-Modus und einem PEEP von 5 cm H<sub>2</sub>O. Der Narkoseerhaltung diente ein Gasgemisch mit  $FiO_2 = 0,4$ , Desfluran (maximale endexpiratorische Konzentration 6 vol %) und die kontinuierliche Fentanylinfusion (0,06 – 0,12 µg/kg KG /min). Die Muskelrelaxation wurde mittels 1mg/kg KG cis-Atracurium nach Bedarf fortgeführt. Einige Patienten erhielten anstatt der systemischen Fentanyl - Applikation eine Sufentanil-/Ropivacain-Lösung epidural über einen thorakalen Periduralkatheter.

Die intraoperative Überwachung beinhaltete unter anderem die kontinuierliche invasive arterielle (A. radialis) und zentralvenöse (V. cava superior) Druckmessung, EKG und

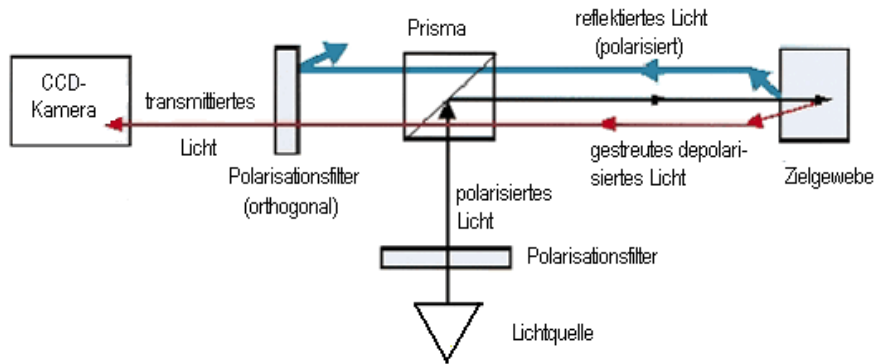
Kapnometrie mit einem endtidalen  $\text{CO}_2$  zwischen 35 und 40 mmHg. Die Volumentherapie erfolgte in Abhängigkeit vom Blutverlust, Blutdruck und zentralvenösen Druck. Dabei wurden die Hämoglobinkonzentration zwischen 9-12 g/dl, der arterielle Mitteldruck über 60 mmHg und der zentralvenöse Druck unter 5 mmHg gehalten. Während der anhepatischen Phase wurde die Fentanylzufuhr unterbrochen und die Narkose nur mit Desfluran weitergeführt. 20 Minuten vor der Reperfusion der Leber erfolgte die Injektion von 250 mg Methylprednisolon i.v.. Alle Patienten wurden direkt nach Beendigung der Operation extubiert und zur weiteren Überwachung und Therapie auf die Intensivstation verlegt.

### **7.3 Orthogonal Polarization Spectral (OPS) Imaging**

Die Erstbeschreibung dieser Technik erfolgte durch Groner et al.[110] in Nature Medicine im Oktober 1999. Die Orthogonal Polarization Spectral Imaging Technik, im folgenden als OPSI bezeichnet, ermöglicht erstmals die intravitale Visualisierung der menschlichen Mikrozirkulation, verzichtet dabei allerdings komplett auf die Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen.

Die Bildgebung der Mikrozirkulation erfolgt in einer fokussierten Ebene 200 bis 500  $\mu\text{m}$  unter der Organoberfläche. Dabei wird von einer in dem Messkopf integrierten Lichtquelle erzeugtes Licht auf einen Spektralfilter gelenkt. Dieser Filter isoliert Licht mit der Wellenlänge von 548 nm. Die Wellenlänge von 548 nm entspricht dabei exakt einem isobestischen Punkt von Hämoglobin. Dies ist die Wellenlänge, bei der Hämoglobin sowohl in oxigenerter als auch in desoxigenerter Form zu gleichen Anteilen das auftreffende Licht absorbiert.

Anschließend wird das Licht in einem Polarisationsfilter linear polarisiert. Dadurch werden die dreidimensionalen Schwingungen der Photonen auf zwei Dimensionen, also in einer Ebene, eingegrenzt. Dieses linear polarisierte Licht wird nun über ein Prisma um  $90^\circ$  abgelenkt und schließlich durch eine konvexe Linse auf eine Region von ca. 1 mm Durchmesser und 200 bis 500  $\mu\text{m}$  tief im Gewebe fokussiert.



**Abbildung 2: Optische Schemazeichnung eines OPSI Messkopfes modifiziert nach Groner et al[110].**



**Abbildung 3: Orthogonal polarization spectral imaging Messkopf nach Groner et al.[110]**

Beim Auftreffen des polarisierten Lichtes auf das Parenchym treten folgende wellenoptische Phänomene auf. Ein Teil des Lichtes wird bereits an der Organoberfläche reflektiert. Dabei behält es seine polarisierten Eigenschaften bei. Ein weiterer Anteil des Lichtes wird beim Eindringen in das Gewebe gestreut. Das zurückemittierte Streulicht verliert dabei seine polaren Eigenschaften, so dass die Photonen wieder frei in allen drei Dimensionen schwingen. Ein Teil des zurückemittierten Lichtes wird nun vom Hämoglobin darüberliegender Gefäße absorbiert, während die Photonen das restliche hämoglobinfreie Gewebe weitgehend ungehindert passieren können. Das nun zum Messkopf zurückkommende Licht durchläuft einen zweiten Polarisationsfilter, auch als Analysator bezeichnet, wobei das unpolarisierte reflektierte Licht vom Streulicht gefiltert wird. Dies beruht auf den folgenden physikalischen Gesetzen: Werden zwei Polarisatoren (der zweite entspricht hier dem Analysator) exakt orthogonal hintereinander geschaltet, so ist die Intensität des durchlaufenden polarisierten Licht hinter dem zweiten Polarisator gleich null. Dies erklärt sich daraus, dass ein Polarisator nur Licht in einer bestimmten

Schwingungsebene mit der Amplitude  $A$  hindurchlässt. Ein darauf folgender Polarisator, der um einen Winkel  $\alpha$  gegenüber dem ersten gedreht ist, lässt wiederum nur den Anteil  $A' = A \cdot \cos \alpha$  hindurch. Entsprechend verhalten sich die Lichtintensitäten dazu proportional  $I' = I \cdot \cos \alpha$ . Setzt man für  $\alpha = 90^\circ$  ein, so ist mit  $I' = I \cdot \cos 90^\circ = 0$ . Hieraus zeigt sich, dass das reflektierte, polarisierte Licht beim Durchlaufen des Analysators, welcher exakt orthogonal zum Polarisator justiert ist, vollständig herausgefiltert wird [133].

Somit bleibt nur noch der depolarisierte Streulichtanteil zurück, welcher nach Durchlaufen des Analysators mit Hilfe einer charge-couple device Videocamera in ein Bild gewandelt und auf einem Monitor dargestellt wird. Da ein großer Anteil des zurückkehrenden Streulichtes beim Durchlaufen von Hämoglobin absorbiert wird, bilden sich die hämoglobingefüllten Gefäße im negativen Kontrast zum umliegenden Parenchymgewebe ab. Die endgültige Vergrößerung auf dem Monitor beträgt Faktor 465. Mit dieser Technik kann die Mikrozirkulation ähnlich wie bei der Epiillumination der Intravitalmikroskopie visualisiert werden [110].

#### **7.4 Intraoperative Messung**

Der OPSI-Messkopf des Cytoscan Modell E-II (Cytometrics Incorporated, Philadelphia, PA., USA) und das zuführende Kabelsystem wurden in sterile Folie (OpMi Drape<sup>TM</sup>, Zeiss Oberkochen, Deutschland) eingepackt. Zur Messung der Basiswerte wurde direkt nach der Laparotomie der OPSI-Messkopf unter Immersion mit physiologischer Natriumchlorid-Lösung vorsichtig auf die viscerale Leberoberfläche positioniert. Die Positionierung und die Führung erfolgten manuell.

Es wurden vier Regionen auf dem rechten und linken Leberlappen randomisiert ausgewählt und für 30 – 60 Sekunden pro Region dargestellt. Die entstehenden Aufnahmen wurden direkt auf einem Monitor sichtbar gemacht und überwacht und für spätere Analysen mit Hilfe eines Videorecorders (S-VHS, AG 7350-E, Panasonic, Matsushita Electric Ind., Osaka, Japan) gespeichert.

Die Messungen erfolgten direkt nach Laparotomie (Gruppe I, IIA und B), nach Pfortader-Rekanalisierung (Gruppe IIA), nach simultaner Reperfusion von Pfortader und Arterie (Gruppe IIB und III), nach Freigabe des Arteriellen Blutstromes (Gruppe IIA) sowie 30 Minuten nach Beginn der Reperfusion (Gruppe IIA, B und III).

## **7.5 Bildanalytische Auswertung der Mikrozirkulationsdaten**

Die quantitative Messdatenerfassung mikrozirkulatorischer Parameter aus den videoaufgezeichneten Messsequenzen erfolgte mit einem speziellen computerassistierten Analysesystem (CapImage™, Zeintl, Heidelberg, Germany) [134]. Der für das Abspielen der Videobänder (S-VHS TDK 30 min) benutzte Videorecorder (Panasonic AG-7350) wurde mit Hilfe des CapImage™ –Rechners gesteuert. Somit war es möglich, einzelne Standbilder auf den CapImage™ – Rechner zu überspielen und zu vermessen.

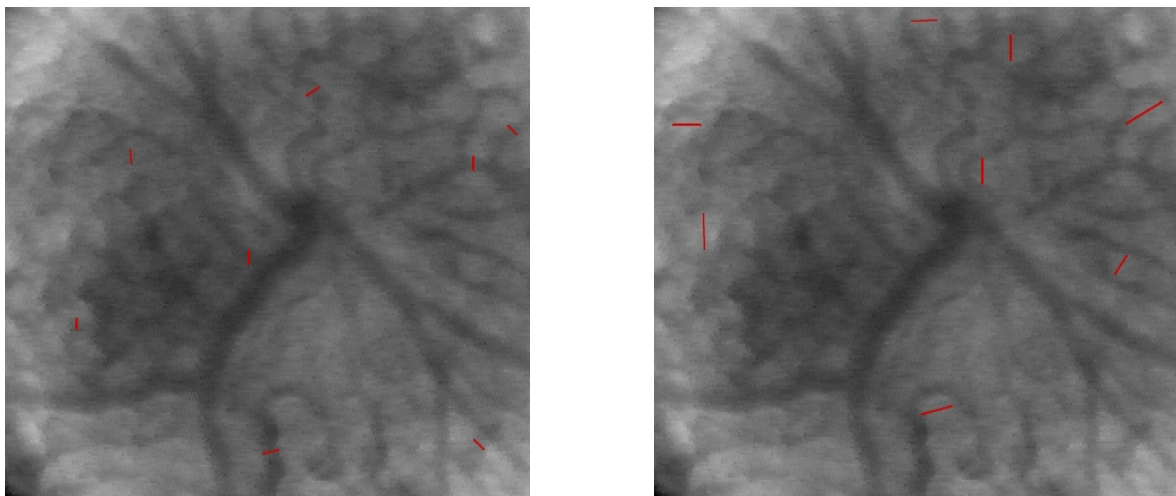
Es wurden die Parameter sinusoidaler Durchmesser (D), intersinusoidaler Abstand (ISD = inter-sinusoidal distance), funktionelle sinusoidale Dichte (FSD = functional sinusoidal density) und die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV = red blood cell velocity) quantitativ gemessen. Zusätzlich wurden die Parameter volumetrischer Blutfluss innerhalb der Sinusoide (VBF = volumetric blood flow) und der Homogenitätsindex (HI homogeneous index) der FSD rechnerisch ermittelt.

### **7.5.1 Messung des sinusoidalen Durchmessers**

Es wurden aus den Aufnahmesequenzen eines Messzeitpunktes wahlweise  $10 \pm 5$  Standbilder erzeugt und mit Hilfe der CapImage™ Software analysiert. Dabei erfolgte die Vermessung von acht Sinusoiden innerhalb eines Standbildes, indem mit einer Computermaus Messlinien zwischen den Wänden der Sinusoide eingezeichnet wurden. Aufgrund des durch die OPSI-Technik dargestellten Hämoglobin- und somit Erythrozytenabbildes entsprechen die sichtbaren und vermessenen Randlinien der Sinusoide dem Innendurchmesser der Gefäße. Aus diesen Messlinien berechnet die verwendete Software unter Berücksichtigung des Vergrößerungsfaktors von 465 jeweils die Messzahl. Aus diesen acht Messzahlen wurde der Mittelwert gebildet, so dass pro Standbild ein Durchschnittswert der Sinusoiddurchmesser erhoben wurde. Diese Durchschnittswerte wiederum wurden mit Hilfe vom Microsoft Excel™ gespeichert und später im Rahmen der Statistikberechnungen weiterverarbeitet. Folglich wurden pro Aufnahmezeitpunkt zwischen 40 und 120 einzelne Sinusoide vermessen, aus denen schließlich ein Mittelwert pro Untersuchungszeitraum gebildet wurde.

### 7.5.2 Messung des inter-sinusoidalen Abstandes ISD

Die Ausmessung des inter-sinusoidalen Abstandes erfolgte im Prinzip analog zu der Durchmessermessung. In denselben  $10 \pm 5$  Standbildern wurden direkt nach der Messung der sinusoidalen Durchmesser die inter-sinusoidalen Abstände gemessen, indem Messlinien zwischen den Sinusoiden eingezeichnet wurden und mit Hilfe der CapImage™ Software deren Längen errechnet wurden. Es wurden auch hier wieder acht Messwerte pro Standbild erhoben und gemittelt. Die Speicherung erfolgt in Microsoft Excel™ zur späteren statistischen Auswertung.



**Abbildung 4:** Vermessung der sinusoidalen Durchmesser (links) und der inter-sinusoidalen Abstände ISD (rechts) im Messbild.

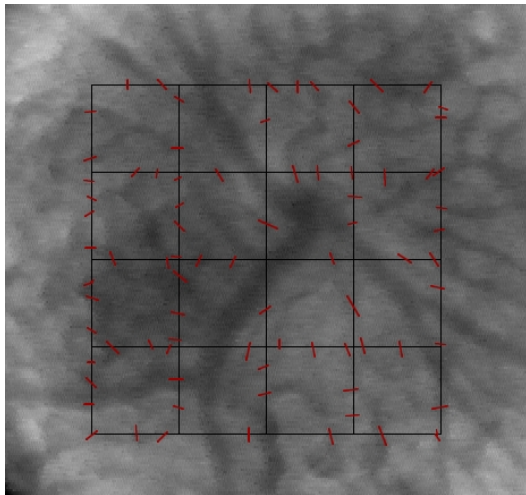
### 7.5.3 Messung der funktionellen sinusoidalen Dichte FSD

Die FSD ist definiert als die Gesamtlänge aller perfundierten Sinusoide pro Fläche. Entsprechend der Erstbeschreibung durch Schmid-Schönbein et al. [135] wird jeweils die Fläche von  $200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$  ausgemessen und der Messwert in der Einheit  $\text{cm}/\text{cm}^2$  ausgedrückt. Bei dieser Methode kommt ein Gitternetz zur Anwendung, welches ein in-vivo Beobachtungsfeld von  $200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$  eingrenzt. Der Rasterabstand beträgt  $50 \mu\text{m}$ . Dieses Gitternetz wurde entsprechend dem Vergrößerungsfaktor und dem Abszissen – Ordinaten - Verhältnis des Videobildes auf eine Folie aufgezeichnet und zur Messung an der Oberfläche des Monitors befestigt. An den selben  $10 \pm 5$  Standbildern wurde nun die Anzahl N von Kreuzungen perfundierter

Sinusoide und Gitternetzlinien gezählt, in Microsoft Excel™ gespeichert und nach folgender Formel [135] die FSD berechnet:

$$FSD = \frac{\pi}{2} \times \frac{N}{L} \quad \left[ \frac{cm}{cm^2} \right]$$

N = Anzahl der Kreuzungen perfundierter Sinusoide mit Gitternetzlinien  
L = Gesamtlänge des Gitternetzsystems, hier L = 200 µm = 0,2 cm



**Abbildung 5: Ermittlung der funktionellen sinusoidalen Dichte FSD im Messbild**

Bei der späteren statistischen Auswertung wurden die FSD Messwerte der einzelnen Standbilder gemittelt, so dass bei  $10 \pm 5$  Standbildern ein aussagekräftiger Mittelwert pro Messsequenz vorhanden ist. Die Erstbeschreibung zur Erhebung der funktionellen kapillären Dichte FKD erfolgte wie bereits erwähnt durch Schmid-Schönbein et al. am Beispiel von exokrinem Pankreasgewebe [135, 136]. Alternativ könnte die Methode nach Clemens et al. angewendet werden, bei der die Anzahl der Kreuzungen perfundierter Sinusoide mit einer 200 µm langen horizontalen Messlinie ermittelt und hieraus entsprechend die FKD berechnet wird [6]. Dabei ist der zu ermittelnde Wert entscheidend davon abhängig, wo der Beginn der Linie angesetzt wird und unterliegt damit einem Untersucher abhängigen Fehler, der in der Flächenmethode von Schmid-Schönbein ausgeschlossen wird. Wir haben uns wegen der genaueren Messung daher für die Schmid-Schönbein et al. - Methode entschieden und diese für die funktionelle sinusoidale Dichte FSD angewandt.



#### 7.5.4 Messung der Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV)

Die Erfassung der RBCV stellt eine dynamische Messung dar. Dabei wird auf einem Monitor (Grundig BG 661) der zurückgelegte Weg  $s$  einer Erythrozytensäule in einem bestimmten Zeitintervall  $\Delta t$  gemessen. Die Wegstrecke wurde mit einem Messschieber am Monitor ermittelt. Dabei wurde darauf geachtet, dass der Anfang der Messstrecke an einer Gefäßaufzweigung liegt, um im Verlauf der Einzelbildweiserschaltung nicht die Orientierung zum Wegstreckenstartpunkt zu verlieren. Nach drei bis sieben Einzelbildweiserschaltungen wurde die zurückgelegte Wegstrecke der Erythrozytensäule pro Zeiteinheit gemessen. Dabei beträgt das Zeitintervall einer Einzelbildweiserschaltung exakt 20 ms. Dieser Wert lässt sich aus den technischen Angaben des Videorecorders (Panasonic AG-350) entnehmen. Des Weiteren wurde diese Angabe überprüft, indem eine Videouhr (FOR-A VTG-33) bei einigen Videobändern mit aufgespielt und entsprechende Zeitintervalle ausgemessen wurden. Bei dem benutzten Monitor entspricht, nach Berechnung des Vergrößerungsfaktors, eine Distanz von 11,3 cm 200  $\mu\text{m}$  realer Länge im Gewebe. Dies wurde auch mit einer aufgezeichneten Maßskala verifiziert. Die reale Wegstrecke  $s$  der Erythrozyten in den Sinusoiden wurde mit der resultierenden Verhältnisgleichung errechnet und in Microsoft Excel™ gespeichert.

$$s = \frac{200 \mu\text{m} \times s_M}{11,3 \text{ cm}}$$

$s$  = wahre Weglänge im Sinusoid

$s_M$  = gemessene Wegstrecke am Monitor in cm

Die RBCV wurde dann schließlich nach den Gesetzen der geradlinig gleichmäßigen Bewegung  $v = s/t$  berechnet. Es wurde darauf geachtet, dass in geradlinigen Sinusoidabschnitten gemessen wurde, um Beschleunigungen auszuschließen, welche die Anwendung der gleichförmigen, geradlinigen Bewegungsgesetze verbieten würden. Die Maßeinheit der RBCV wurde in  $\mu\text{m/s}$  angegeben [137]. Es wurden pro Perfusionszeitraum zwischen 5 und 12 Messungen durchgeführt und diese zu einem Mittelwert zusammengefasst.

### 7.5.5 Messung des volumetrischen Blutflusses VBF

Der volumetrische Blutfluss (volumetric blood flow = VBF) in den Sinusoiden wurde berechnet mit Hilfe des sinusoidalen Durchmessers  $D$  und der Erythrozytenflussgeschwindigkeit  $RBCV$  bei Annahme einer zylindrischen Geometrie der Sinusoide [138].

$$VBF = \left(\frac{\pi}{4}\right) \times D^2 \times RBCV$$

$D$  = Durchmesser der Sinusoide  
 $RBCV$  = red blood cell velocity

Die Maßeinheit ist  $\mu\text{m}^3/\text{s} = \text{fl}/\text{s}$ . Die Berechnung erfolgte in Microsoft Excel™.

### 7.6 Statistische Auswertung der Messdaten

Die statistische Auswertung und graphische Darstellung erfolgte mit SigmaStat™ und SigmaPlot™. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung.

#### 7.6.1 Gruppe I - Evaluierung der Untersuchungsmethodik

In der Patientengruppe I erfolgte die Untersuchung auf Normalverteilung und Homogenität der Varianz mittels Kolmogorov-Smirnov-Test. Die intraindividuellen Inhomogenitäten mikrozirkulatorischer Parameter wurden mittels Berechnung des Heterogenitätsindex HI überprüft. Die Indexberechnung erfolgte aus der Differenz von Maximal- und Minimalwert einer Messreihe, dividiert durch ihren Mittelwert [62, 136].

#### 7.6.2 Gruppe IIA - sequentiell reperfundierte Leberlebendtransplantationen und Gruppe IIB - simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen

Für die mikrozirkulatorischen Parameter sowie für die Enzymverlaufparameter innerhalb der Gruppen wurde der ANOVA für wiederholte Messungen mit folgendem Post Hoc Test nach Bonferroni durchgeführt. Unterschiede wurden bei einem  $p < 0,05$  als signifikant angesehen. Zusammenhänge zwischen mikrozirkulatorischen Parametern und kalter Ischämiezeit, Klemmzeit der Vena portae sowie der postoperativen Transaminasenfreisetzung wurden mit der Pearson Produkt Moment

Korrelation untersucht. Um einen Einfluss durch die Anlage eines veno-venösen Bypasses sowie einen eventuellen Einfluss der Konservierungslösungen HTK oder UW auszuschließen, wurde ein t-Test durchgeführt.

### **7.6.3 Gruppe III – Orthotope Lebertransplantationen (OLTX)**

Die Untersuchung auf Normalverteilung und Homogenität der Varianz erfolgte mittels Kolmogorov-Smirnov-Test. Der Vergleich mikrozirkulatorischer Parameter zwischen der OLTX – transplantierten Patientengruppe und der Kontrollgruppe wurde mit dem ANOVA für wiederholte Messungen durchgeführt, innerhalb der Transplantationsgruppe mit Students t-Test. Unterschiede wurden mit  $p < 0,05$  als signifikant angesehen. Zusammenhänge zwischen mikrozirkulatorischen Parametern und kalter Ischämiezeit, anhepatischer Phase, Spender-Alter, Aufenthaltsdauer des Spenders auf der Intensivstation, Bilirubinlevel und postoperativer Transaminasenfreisetzung wurden mit der Pearson Produkt Moment Korrelation evaluiert.

## 8 Ergebnisse

### 8.1 Evaluierung der Messmethode

In einer Gruppe von 11 Patienten wurde die Anwendbarkeit von OPS-imaging zur in-vivo Darstellung der humanen hepatischen Mikrozirkulation evaluiert. Eine Determinierung mikrozirkulatorischer Parameter unter physiologischen Bedingungen wurde erarbeitet. Während der gesamten Messung lagen bei allen Patienten stabile makrohämodynamische Parameter vor, die wie folgt aufgezeichnet wurden. Der systolische und diastolische Blutdruck betrug  $119 \pm 7$  mmHg und  $64 \pm 8$  mmHg, der zentrale Venendruck  $5,3 \pm 1,2$  cm H<sub>2</sub>O, die Herzfrequenz  $74 \pm 8$  pro Minute. Weiterhin wurden ein Hämoglobinwert von  $12,5 \pm 1,5$  mg %, eine Sauerstoffsättigung von  $98 \pm 1\%$  und eine EtCO<sub>2</sub> von  $3,9 \pm 0,8$  % ermittelt.

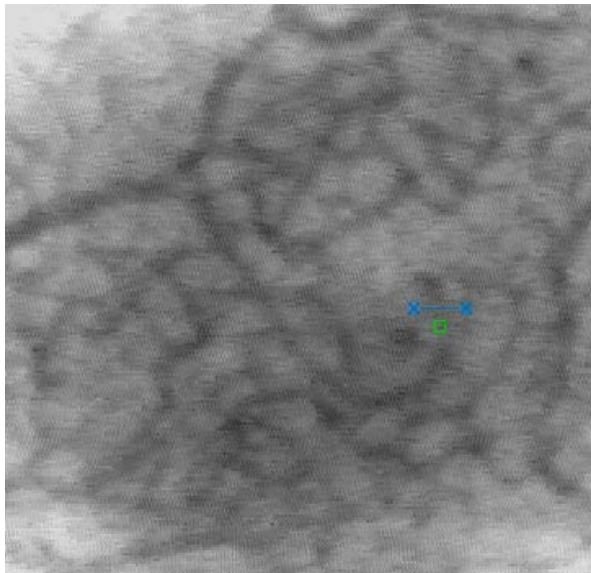
Es konnten die folgenden, allgemeinen Feststellungen getroffen werden:

1. Mit OPS-imaging lässt sich eine fokussierte und gut kontrastierte Bildgebung der humanen hepatischen Mikrozirkulation erzeugen.
2. Die hämoglobintragenden Erythrozyten stellen sich im negativen Kontrast zum umliegenden hell erscheinenden Parenchym dar, ohne dass die Anwendung von humantoxischen Kontrastmitteln notwendig ist.
3. Aufgrund der OPS-Technik lassen sich nur die Erythrozytensäulen darstellen, nicht jedoch die Endothelzellen der Gefäßwände oder weitere Blutzellen wie z.B. Leukozyten.
4. Die mikrozirkulatorische Architektur, wie portal zuführende Venolen, Sinusoide und postsinusoidale Venolen, lässt sich sehr gut charakterisieren.
5. Störungen in der mikrozirkulatorischen Perfusion wie zum Beispiel Erythrozytenaggregation oder Stase des Blutflusses lassen sich aufgrund der dynamischen Bildgebung detektieren.

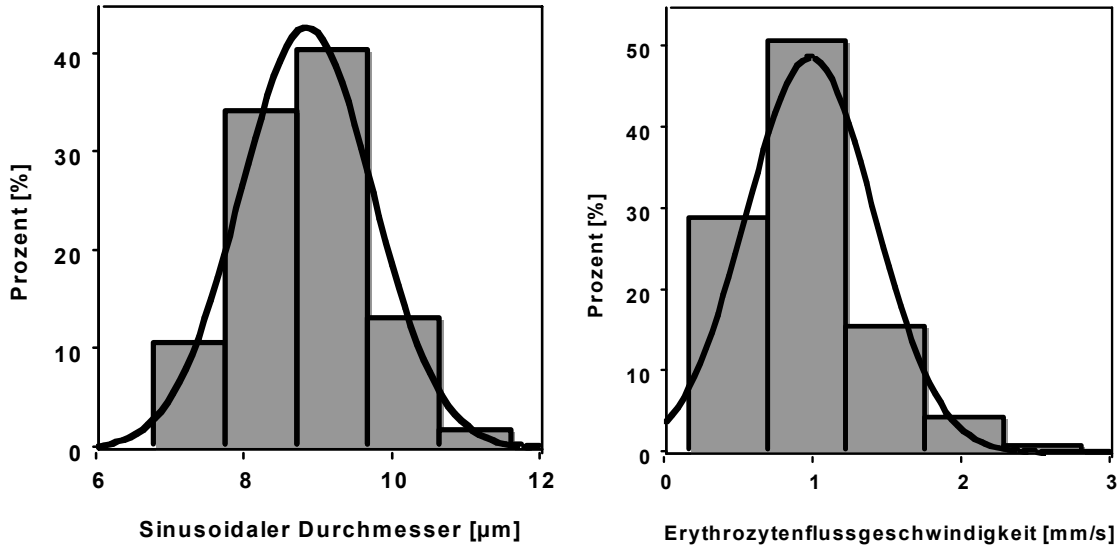
6. Mittels Videoaufzeichnung lassen sich qualitativ hochwertige Aufnahmen erstellen, an denen anschließend offline mittels computergestützter Messsoftware [134] mikrozirkulatorische Parameter quantitativ gemessen werden können.

In der Darstellung der physiologischen hepatischen Mikrozirkulation dieser Gruppe zeigte sich eine homogene sinusoidale Perfusion nahezu aller Sinusoide. Es gab keine Anzeichen für Erythrozytenaggregationsbildung oder gar Stase des Blutflusses.

Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit lag zwischen 0,17 mm/s und 2,81 mm/s mit einem Mittelwert von  $0,97 \pm 0,43$  mm/s. Es wurden 440 einzelne Messungen durchgeführt. Auffallend ist die deutliche Heterogenität der Flussgeschwindigkeiten, die sich auch im Heterogenitätsindex mit  $1,4 \pm 0,6$  widerspiegelt. Ateminduzierte Druckschwankungen in der Vena cava inferior könnten unter anderem diese Heterogenität bedingen. Die Messdaten der Erythrozytenflussgeschwindigkeit sind daher nicht normalverteilt, wie es eine K-S Distanz von 0,0874 und ein P-Wert von 0,0098 zeigen (Kolmogorov-Smirnov-Test).



**Abbildung 6: OPS-Aufnahme der humanen hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen.**



**Abbildung 7: Histogramme der Erythrozytenflussgeschwindigkeit in humanen hepatischen Sinusoiden sowie deren Durchmesser unter physiologischen Bedingungen. Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov.**

Der sinusoidale Durchmesser (Innendurchmesser) wurde indirekt durch die Breite der Erythrozytensäule gemessen. Dabei wurde bei insgesamt 440 vermessenen Sinusoiden ein Mittelwert von  $8,8 \pm 0,9 \mu\text{m}$  mit einer Streubreite von 6,8 bis 11,6  $\mu\text{m}$  ermittelt.

Der volumetrische Blutfluss der individuellen Sinusoide, der sich aus den beiden aufgezeigten Parametern berechnet, lag zwischen 19,2 und 140,5 pl/s mit einem Mittelwert von  $58,2 \pm 9,6 \text{ pl/s}$ .

Weiterhin wurde in 440 Einzelmessungen der intersinusoidale Abstand mit einem Mittelwert von  $22,6 \pm 2,5 \mu\text{m}$  und einer Streuung von 16,4 – 29,6  $\mu\text{m}$  bestimmt.

Die funktionale sinusoidale Dichte, welche die Anzahl der tatsächlich perfundierten Sinusoide wiedergibt, ergab Messwerte zwischen 314 und 456  $\text{cm}^{-1}$  bei einem Mittelwert von  $391 \pm 30 \text{ cm}^{-1}$ . Insgesamt 88 Einzelmessungen wurden durchgeführt.

Die Messdaten des sinusoidalen Durchmessers, des volumetrischen Blutflusses, des intersinusoidalen Abstandes sowie der funktionalen sinusoidalen Dichte sind normalverteilt (Kolmogorov-Smirnov-Test). Der Heterogenitätsindex dieser Parameter lag unter 0,5, was auf eine homogene Perfusion schließen lässt.

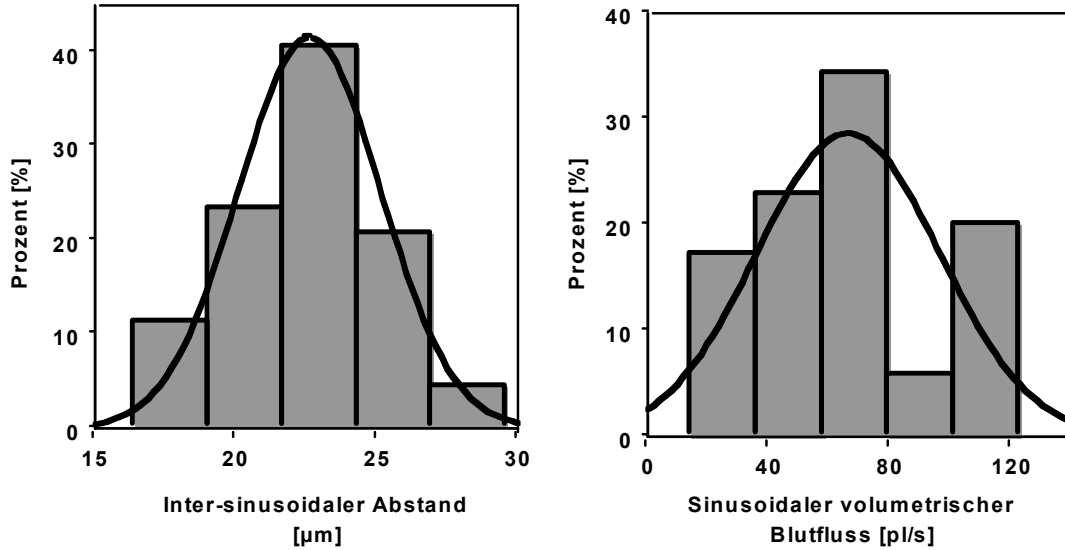


Abbildung 8: Histogramme des sinusoidalen volumetrischen Blutflusses in  $\text{pl/s}$  und des intersinusoidalen Abstandes in  $\mu\text{m}$  der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen. Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov.

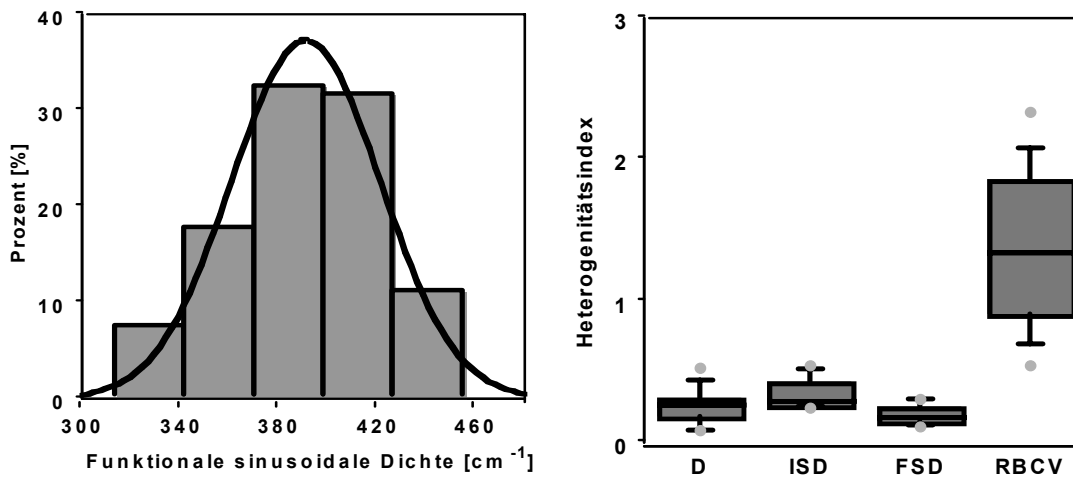


Abbildung 9: Links: Histogramm der funktionalen sinusoidalen Dichte in  $\text{cm}^{-1}$ . Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov. Rechts: Darstellung der Heterogenitätsindizes für den sinusoidalen Durchmesser (D), die intersinusoidale Distanz (ISD), die funktionale sinusoidale Dichte (FSD) sowie die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV).

## 8.2 Mikrozirkulationsanalyse während der humanen Leberlebendtransplantation

### 8.2.1 Gruppe der sequentiell reperfundierten Leberlebendtransplantationen

#### 8.2.1.1 Hämodynamische und assoziierte Parameter

Die folgenden hämodynamisch wirksamen Parameter wurden während der einzelnen mikrozirkulatorischen OPSI – Messungen protokolliert und verhielten sich stabil.

**Tabelle 10: Hämodynamische- und Blutgasparameter während der drei mikrozirkulatorischen Messintervalle in der Gruppe IIA - sequentiell reperfundierte Leberlebendtransplantationen**

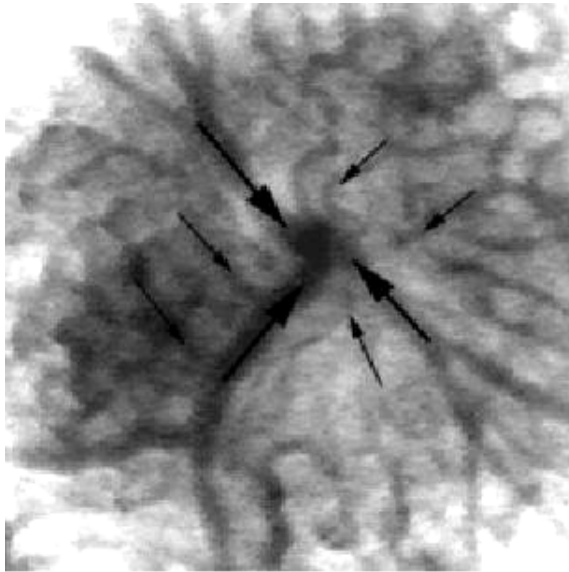
Parameter	Portale Reperfusion	Arterielle RP 5 min	Arterielle RP 30 min
RR sys (mm Hg)	102 ± 15	105 ± 16	107 ± 17
RR dia (mm Hg)	50 ± 9	52 ± 11	53 ± 12
ZVD (cm H <sub>2</sub> O)	5,8 ± 3,1	6,0 ± 3,6	6,0 ± 3,0
Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	94 ± 12	93 ± 14	93 ± 14
Hämoglobin (mg/dl)	10,1 ± 2,3	10,1 ± 2,3	10,3 ± 1,9
Sauerstoffsätt. (%)	99 ± 1	99,4 ± 0,7	99,6 ± 0,5
EtCO <sub>2</sub> (Vol%)	4,8 ± 0,8	4,6 ± 0,6	4,8 ± 0,7
pO <sub>2</sub> (mm Hg)	231 ± 105	230 ± 106	197 ± 67
pCO <sub>2</sub> (mm Hg)	38 ± 5	39 ± 6	39 ± 4
pH	7,37 ± 0,06	7,37 ± 0,06	7,36 ± 0,05

#### 8.2.1.2 Qualitative Beurteilung der Perfusion

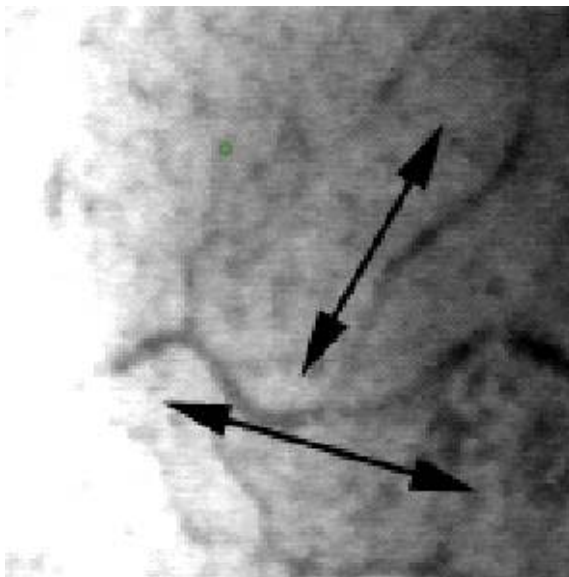
Die Aufnahmen unter physiologischen Bedingungen der 14 Spender-Lebern vor Teilresektion zeigen homogene Perfusion der Sinusoide (Abbildung 10). Nach portaler Reperfusion des transplantierten Organs war ein oszillierender Blutfluss in Korrelation mit der Patientenatmung zu beobachten. Weiterhin kam es zu Erythrozytenaggregationen und teilweise auch zum vollständigen Stillstand der sinusoidalen Perfusion (Abbildung 11). Nach Freigabe des arteriellen Blutflusses



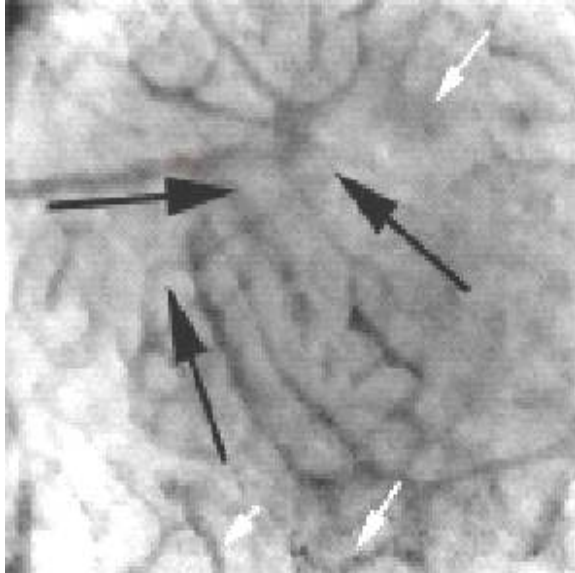
erfolgte eine rasche Reperfusion der initial nicht perfundierten Sinusoide. Im weiteren Verlauf des 30 minütigen Untersuchungsintervalls wurde der Blutfluss zunehmend wieder homogen (Abbildung 12).



**Abbildung 10:** In vivo OPS-Bildgebung der humanen hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen. Der Kontrast entsteht infolge von Absorption des in das Gewebe emittierten Lichtes durch das in den Erythrozyten enthaltene Hämoglobin. Somit erscheinen die Hämoglobin tragenden Zellen im negativen Kontrast zum umliegenden Gewebe. Daraus erklärt sich, dass sich parenchymale- oder Endothelzellen und somit z.B. Gefäßwände mit dieser Technik nicht darstellen lassen. Die Erythrozyten sind eng aneinander säulenförmig angeordnet und repräsentieren damit das innere Gefäßlumen. Die Pfeile zeigen Sinusoide und postsinusoidale Venolen, die in einen Seitenast einer Zentralvene drainieren.



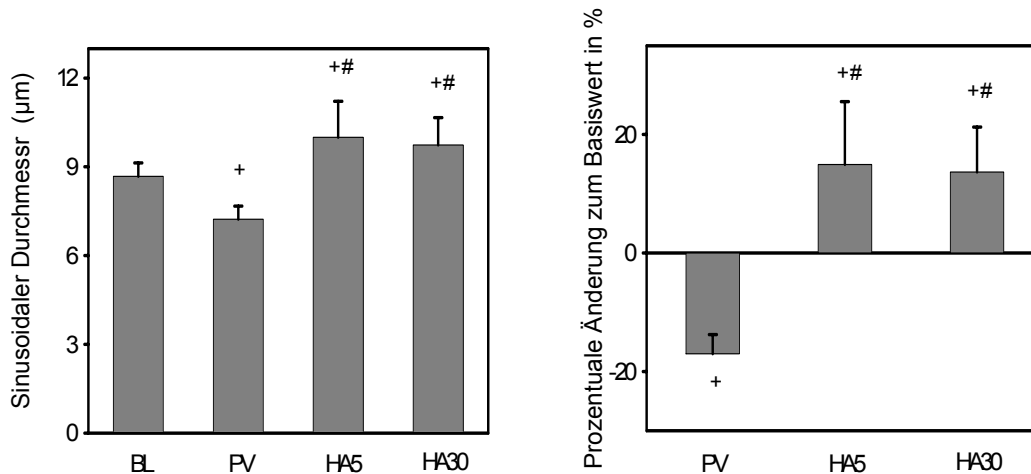
**Abbildung 11:** Nach initialer isolierter Pfortaderreperfusion zeigt sich eindrucksvoll die massive Rarifizierung des sinusoidalen Netzwerkes. Der Blutfluss ist in Korrespondenz zur Patientenatmung innerhalb der Sinusoide oszillierend, veranschaulicht durch die schwarzen Pfeile.



**Abbildung 12:** Nach Reperfusion der Arteria hepatica erfolgt eine rasche Wiederherstellung des sinusoidalen Blutflusses, der nun wieder unidirektional und mehr homogen ist. Dennoch sind die Sinusoide im Vergleich zu den physiologischen Werten dilatiert (schwarze Pfeile). Auch nach 30 Minuten Reperfuionszeit konnten teilweise Erythrozytenaggregation, residuelle Blutstase und Erythrozytenextravasation als Ausdruck einer Reperfusionsschädigung beobachtet werden (weiße Pfeile).

### 8.2.1.3 Quantitative Messergebnisse der sinusoidalen Perfusion

Der Basiswert des sinusoidalen Durchmessers betrug im Durchschnitt  $8,7 \pm 0,5 \mu\text{m}$ . Durch sinusoidale Konstriktion nach portaler Reperfusion verminderte er sich auf  $7,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$ . Dies stellt eine prozentuale Änderung in Bezug auf den Basiswert von  $-17 \pm 3 \%$  dar. 5 Minuten nach arterieller Reperfusion war eine Zunahme des sinusoidalen Durchmessers auf  $10,0 \pm 1,2 \mu\text{m}$  zu messen. Die prozentuale Differenz zur Basisperfusion betrug  $15 \pm 11 \%$ . 30 Minuten nach arterieller Reperfusion betrug der sinusoidale Durchmesser  $9,7 \pm 0,9 \mu\text{m}$ , welches einer prozentualen Änderung zur Basis von  $14 \pm 8 \%$  entspricht. Die Differenzen zum Basiswert des Durchmessers sowohl nach der portalen Reperfusion als auch 5 Minuten und 30 Minuten nach arterieller Reperfusion sowie die Änderungen im Durchmesser 5 Minuten und 30 Minuten nach Arterialisierung in Bezug auf die portale Reperfusion sind alle signifikant mit  $p < 0,05$ .

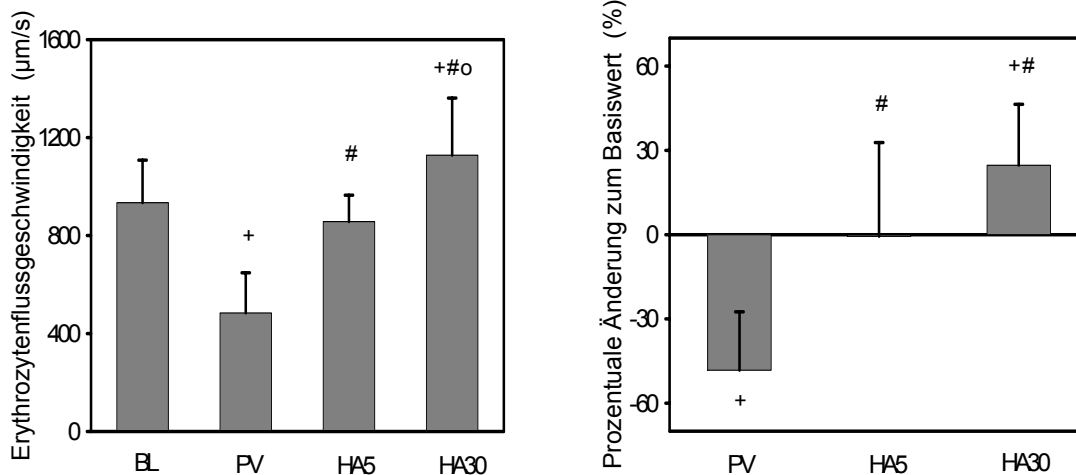


**Abbildung 13:** Links: Der sinusoidale Durchmesser der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), mit anschließender initialer portaler Reperfusion (PV) sowie 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach anschließender arterieller Reperfusion in [µm]. Rechts: Die prozentuale Änderung zum Basiswert, + = Signifikant mit  $p < 0,05$  zum Basiswert., # = Signifikant mit  $p < 0,05$  zur initialen portalen Reperfusion.

Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV) unter physiologischen Bedingungen wurde mit  $940 \pm 170 \mu\text{m/s}$  gemessen. Bei alleiniger portaler Reperfusion war sie signifikant auf  $480 \pm 160 \mu\text{m/s}$  reduziert, was prozentual eine Änderung zum Basiswert von  $-48 \pm 21 \%$  darstellt. Nach 5 Minuten Rearterialisierung stieg sie wieder auf  $860 \pm 110 \mu\text{m/s}$  an und betrug zum Messzeitpunkt 30 Minuten  $1130 \pm 23 \mu\text{m/s}$ . Dies entspricht einer prozentualen Änderung von  $-1 \pm 33 \%$  und  $25 \pm 22 \%$  im Bezug zum Basiswert.

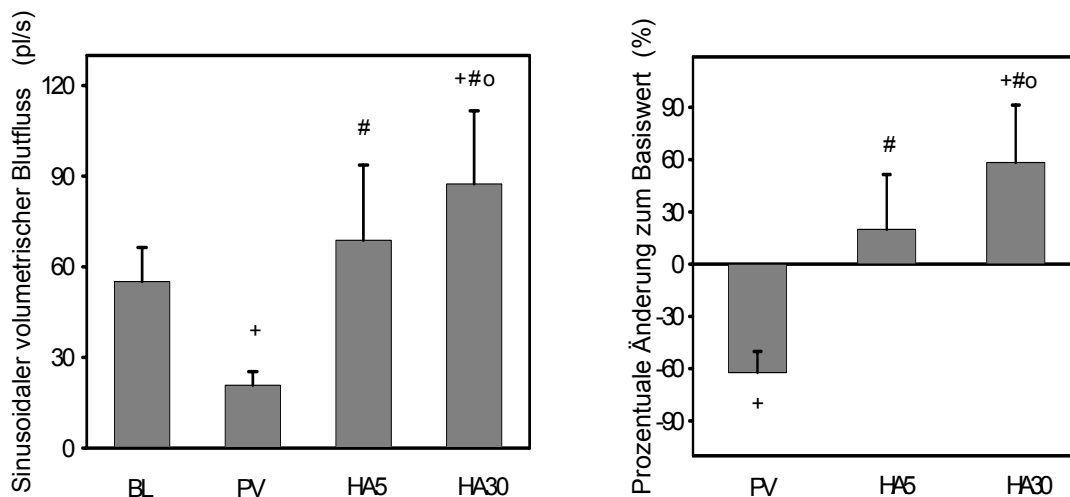
Die Zunahme der Erythrozytenflussgeschwindigkeit zwischen portaler Reperfusion und 5 Minuten nach Arterialisierung ist signifikant. Die RBCV nach 30 minütiger Rearterialisierung war signifikant erhöht gegenüber dem Basiswert, der portalen Reperfusion und gegenüber dem Messwert 5 Minuten nach Rearterialisierung. Dies veranschaulicht die Abbildung 14.

Aus den sinusoidalen Durchmessern und den jeweils zugehörigen sinusoidalen Erythrozytenflussgeschwindigkeiten errechnet sich der individuelle volumetrische Blutfluss. Dieser beträgt unter physiologischen Bedingungen  $55 \pm 11 \text{ pl/s}$ . Bei alleiniger portaler Reperfusion ist der volumetrische Blutfluss um  $-62 \pm 12 \%$  auf  $21 \pm 5 \text{ pl/s}$  signifikant reduziert. 5 Minuten nach einsetzender arterieller Reperfusion wurde ein gesteigerter volumetrischer Blutfluss von  $69 \pm 25 \text{ pl/s}$  ermittelt.



**Abbildung 14:** Links: Erythrozytenflussgeschwindigkeit [ $\mu\text{m/s}$ ] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), nach initialer portaler Reperfusion (PV), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach erfolgter Rearterialisierung. Rechts: Prozentuale Änderung [%] der Erythrozytenflussgeschwindigkeit bezogen auf den physiologischen Basiswert. + =  $p < 0,05$  versus Basiswert, # =  $p < 0,05$  versus initialer portaler Reperfusion, o =  $p < 0,05$  versus 5 Minuten Rearterialisierung.

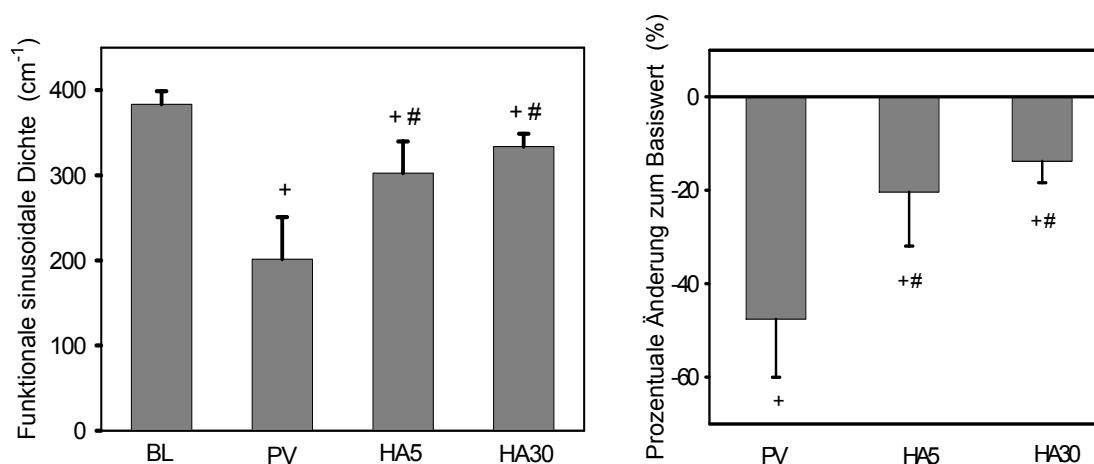
Der volumetrische Blutfluss zum Messzeitpunkt 30 Minuten nach Rearterialisierung stieg weiter an auf  $87,4 \pm 24,2$  pl/s. Dies stellt eine prozentuale Änderung zum Basiswert von  $20 \pm 32\%$  und  $58 \pm 33\%$  dar.



**Abbildung 15:** Links: Sinusoidaler volumetrischer Blutfluss [pl/s] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), nachfolgender portaler Reperfusion (PV), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach subsequent folgender Arterialisierung. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des sinusoidalen volumetrischen Blutflusses zum physiologischen Basiswert. + =  $p < 0,05$  versus Basiswert; # =  $p < 0,05$  versus initialer portaler Reperfusion; o =  $p < 0,05$  versus 5 Minuten Rearterialisierung.

Die Änderung des volumetrischen Blutflusses zwischen portaler Reperfusion und 5 Minuten nach arterieller Reperfusion ist signifikant ( $p < 0,05$ ). Die hyperämische Perfusion zum Messzeitpunkt 30 Minuten nach Reperfusion ist signifikant ( $p < 0,05$ ) zum Basiswert, zur initialen portalen Reperfusion und zum 5 Minuten Messwert.

Die die nutritive Perfusion widerspiegelnde funktionale sinusoidale Dichte (FSD) wurde für den physiologischen Normalwert mit  $383 \pm 15 \text{ cm}^{-1}$  gemessen. Alleinige portale Reperfusion führte zu einer signifikanten ( $p < 0,05$ ) Reduzierung der FSD im Bezug zum Basiswert um  $-48 \pm 12 \%$  auf  $201 \pm 49 \text{ cm}^{-1}$ . Die subsequent folgende arterielle Reperfusion konnte die FSD zum Messzeitpunkt 5 Minuten auf  $303 \pm 37 \text{ cm}^{-1}$  und zum Messzeitpunkt 30 Minuten auf  $334 \pm 15 \text{ cm}^{-1}$  wieder erhöhen.

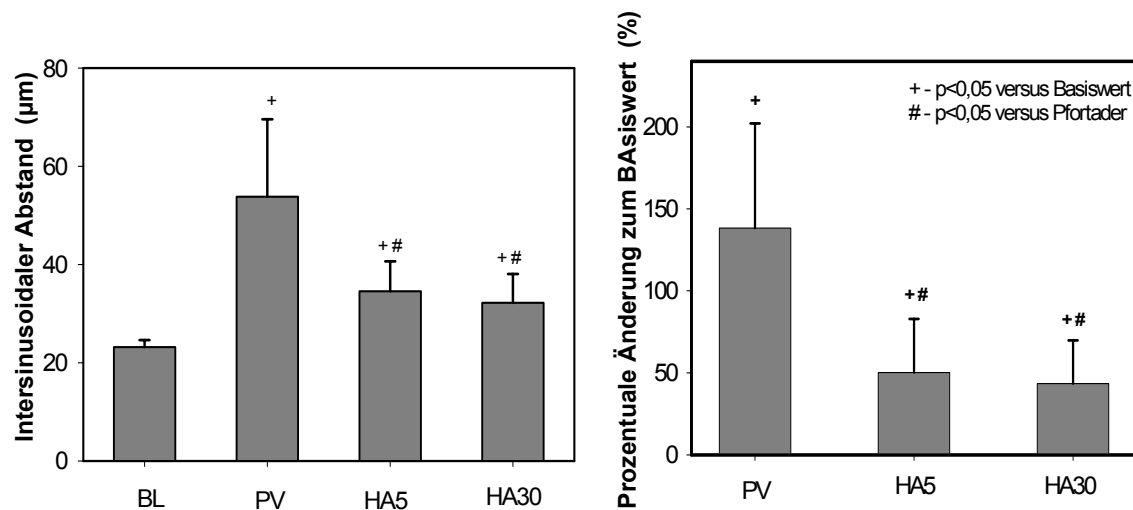


**Abbildung 16:** Links: Funktionale sinusoidale Dichte [ $\text{cm}^{-1}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), nach initialer portaler Reperfusion (PV), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach subsequent folgender Arterialisierung. Rechts: Prozentuale Änderung der funktionalen sinusoidalen Dichte zum physiologischen Basiswert. + =  $p < 0,05$  versus Basiswert; # =  $p < 0,05$  versus initialer portaler Reperfusion.

Jedoch bleibt sie im Vergleich zum physiologischen Ausgangswert signifikant mit  $-20 \pm 12 \%$  5 Minuten und  $-14 \pm 5 \%$  30 Minuten nach arterieller Reperfusion vermindert.

Der intersinusoidale Abstand (ISD), welcher als Marker eines parenchymatösen Ödems gilt, war bei der initialen portalen Reperfusion um  $138 \pm 64 \%$  auf  $53,8 \pm 15,8 \mu\text{m}$  im Bezug zum physiologischen Normalwert von  $23,2 \pm 1,4 \mu\text{m}$  erhöht. Nach arterieller Reperfusion verringerte sich der intersinusoidale Abstand rasch wieder auf  $34,6 \pm 6,0 \mu\text{m}$  zum Messzeitpunkt 5 Minuten und  $32,2 \pm 5,9 \mu\text{m}$  zum Messzeitpunkt 30

Minuten nach Rearterialisierung. Jedoch stellt dies weiterhin eine Erhöhung zum Ausgangswert von  $50 \pm 33 \%$  und  $44 \pm 26 \%$  dar.



**Abbildung 17:** Intersinusoidaler Abstand [ $\mu\text{m}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), nach initialer portaler Reperfusion (PV), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach subsequent folgender Arterialisierung. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des intersinusoidalen Abstandes zum physiologischen Basiswert. + =  $p < 0,05$  versus Basiswert; # =  $p < 0,05$  versus initialer portaler Reperfusion.

#### 8.2.1.4 Korrelationen Rearterialisierungsintervall versus Perfusionsparameter

Das Zeitintervall zwischen portaler Reperfusion und subsequenter Reperfusion der Arteria hepatica (VP-AH-Intervall) beeinflusst signifikant die mikrozirkulatorische Perfusion. Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zeigt einen inversen Zusammenhang zwischen dem Zeitintervall Pfortader - Arteria hepatica - Reperfusion und der, die nutritive Perfusion widerspiegelnden, funktionellen sinusoidalen Dichte mit  $r = -0,66$  und  $p < 0,05$ . Die funktionelle sinusoidale Dichte nimmt mit zunehmendem VP-AH-Intervall ab.

Dem gegenüber steht eine direkte Korrelation mit  $r = 0,84$  ( $p < 0,05$ ) zwischen dem VP-AH-Zeitintervall und dem sinusoidalen volumetrischen Blutfluss. Der sinusoidale volumetrische Blutfluss nimmt mit verlängertem VP-AH-Zeitintervall zu.

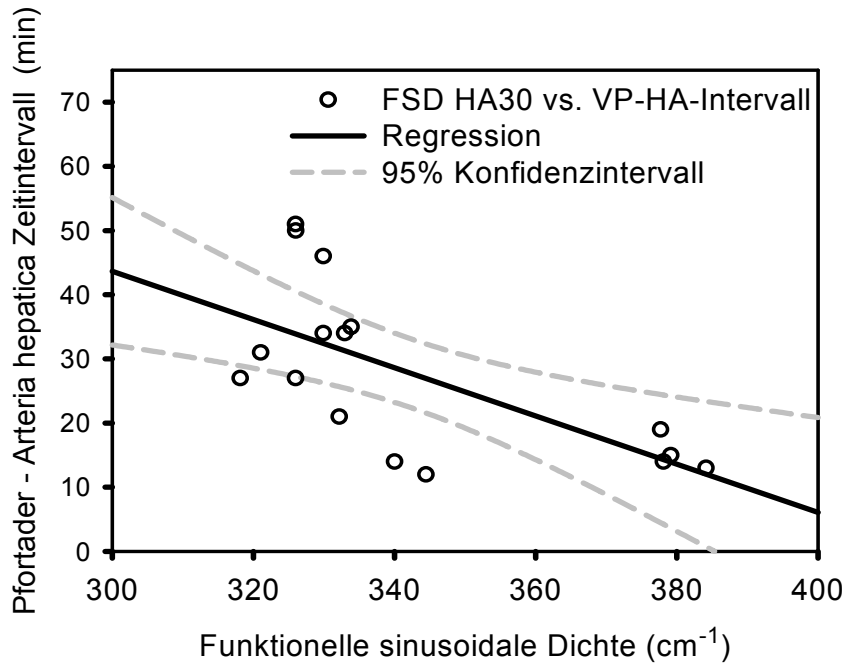


Abbildung 18: Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zwischen Pfortader - Arteria hepatica - Zeitintervall und funktioneller sinusoidaler Dichte (Messzeitpunkt 30 Minuten nach Rearterialisierung) zeigt eine inverse Korrelation mit  $r = -0,66$  bei  $p < 0,05$ . Je länger das VP-HA-Zeitintervall ist, umso mehr fällt die FSD ab.

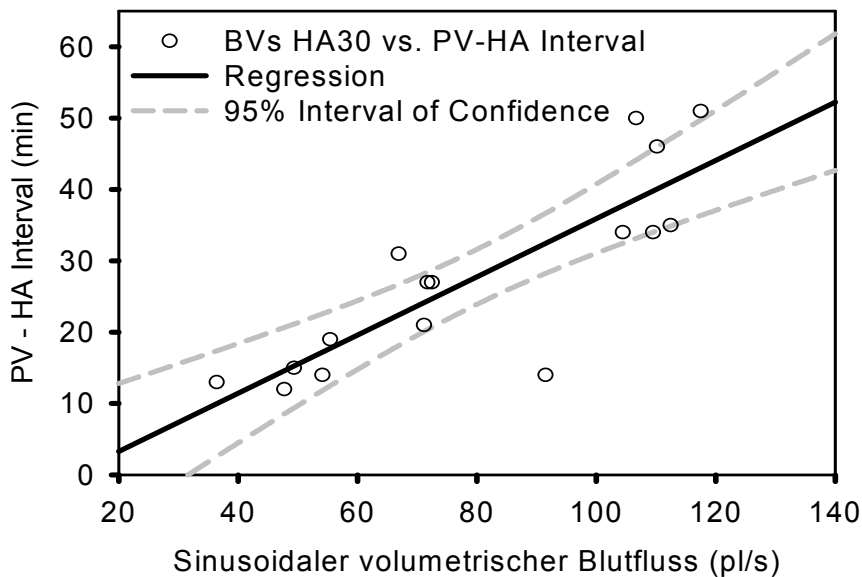


Abbildung 19: Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zwischen Pfortader - Arteria hepatica - Zeitintervall und sinusoidalem volumetrischen Blutfluss (Messzeitpunkt 30 Minuten nach Rearterialisierung) zeigt eine direkte Korrelation mit  $r = 0,84$  ( $p < 0,05$ ). Je länger das VP-HA-Zeitintervall ist, umso mehr steigt der sinusoidale volumetrische Blutfluss an.

### **8.2.1.5 Korrelationen zwischen Perfusionsparametern und Leberenzymen**

Postoperativ erreichten die Transaminasen Aspartat-Aminotransferase ASAT ( $128 \pm 58$  U/l) und Alanin-Aminotransferase ALAT ( $140 \pm 93$  U/l) ihren Höchstwert bereits am ersten postoperativen Tag (POT). Fortlaufend nahmen die ASAT - und ALAT- Werte im Mittel bis zum POT 5 ab. Mittels der Pearson Produkt Moment Korrelation konnte zwischen den beiden Transaminasen ASAT und ALAT jeweils am POT 2 und POT 3 eine inverse Korrelation mit dem sinusoidalen volumetrischen Blutfluss der initialen portalen Perfusion nachgewiesen werden. Für ASAT betrug die Regression am POT 2  $r = -0,62$  ( $p < 0,05$ ) und am POT 3  $r = -0,72$  ( $p < 0,05$ ). Für ALAT wurde die Regression am POT 2 mit  $r = -0,65$  ( $p < 0,05$ ) und am POT 3 mit  $r = -0,68$  ( $p < 0,05$ ) errechnet.

Im Gegensatz dazu besteht keine Korrelation zwischen dem postoperativen Transaminasenanstieg und sinusoidalem Durchmesser, intersinusoidalem Abstand, funktioneller sinusoidaler Dichte sowie Erythrozytenflussgeschwindigkeit.

Sowohl die anhepatische Zeitperiode als auch die kalte Ischämiezeit des Transplantats korrelierten nicht mit mikrozirkulatorischen Parametern und nicht mit dem postoperativen Transaminasenanstieg.

## **8.2.2 Gruppe der simultan reperfundierten Leberlebendtransplantationen**

### **8.2.2.1 Hämodynamische und assoziierte Parameter**

Die folgenden hämodynamisch wirksamen Parameter wurden während der einzelnen mikrozirkulatorischen OPSI – Messungen protokolliert und verhielten sich stabil.

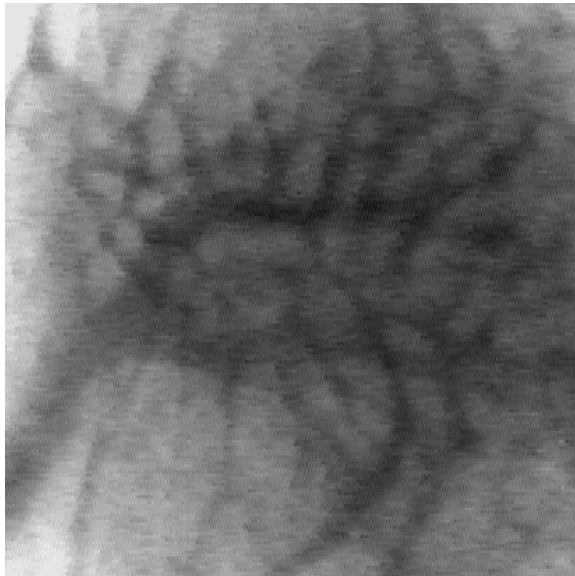


**Tabelle 11: Hämodynamische- und Blutgasparameter während der mikrozirkulatorischen Messintervalle in der Gruppe IIB - simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen**

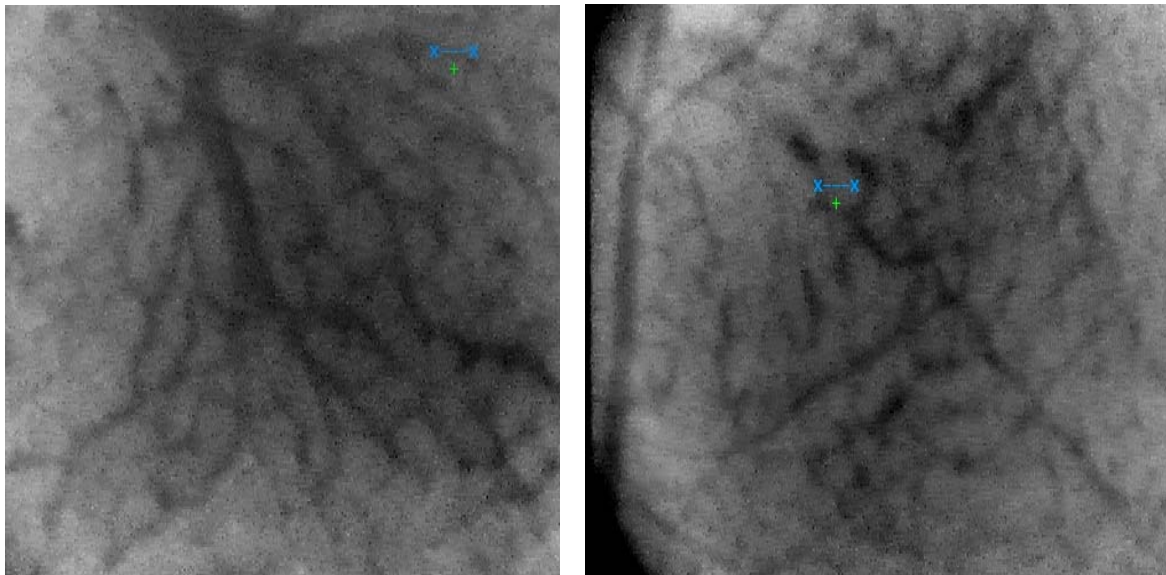
Parameter	Arterielle RP 5 min	Arterielle RP 30 min
RR sys (mmHg)	103 ± 20	114 ± 17
RR dia (mmHg)	57 ± 10	61 ± 12
ZVP (cm H <sub>2</sub> O)	4,7 ± 2,7	4,8 ± 3,7
Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	94 ± 12	90 ± 12
Hämoglobin (mg/dl)	10,3 ± 1,9	10,1 ± 1,7
Sauerstoffsätt. (%)	99 ± 1	99 ± 1
EtCO <sub>2</sub> (Vol%)	4,3 ± 0,3	4,3 ± 0,4
PO <sub>2</sub> (mmHg)	240 ± 131	202 ± 99
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	38 ± 4	37 ± 4
pH	7,41 ± 0,05	7,42 ± 0,05

### 8.2.2.2 Qualitative Beurteilung der Perfusion

Die physiologische Perfusion der humanen Leber ist homogen und lässt sich exzellent mit OPSI darstellen und messen. Nach Transplantation des resezierten Leberlappens zeigt sich 5 Minuten nach simultaner Reperfusion eine ähnlich homogene Perfusion bei leicht reduzierter funktioneller sinusoidaler Dichte. Auch 30 Minuten nach Reperfusion ist eine annähernd homogene Perfusion vorhanden, die der physiologischen Basisperfusion gleicht.



**Abbildung 20:** Die hepatische Mikrozirkulation der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen. Deutlich ist das für die Leber typische sinusoidale Netzwerk zu erkennen mit Drainage in eine Venole.

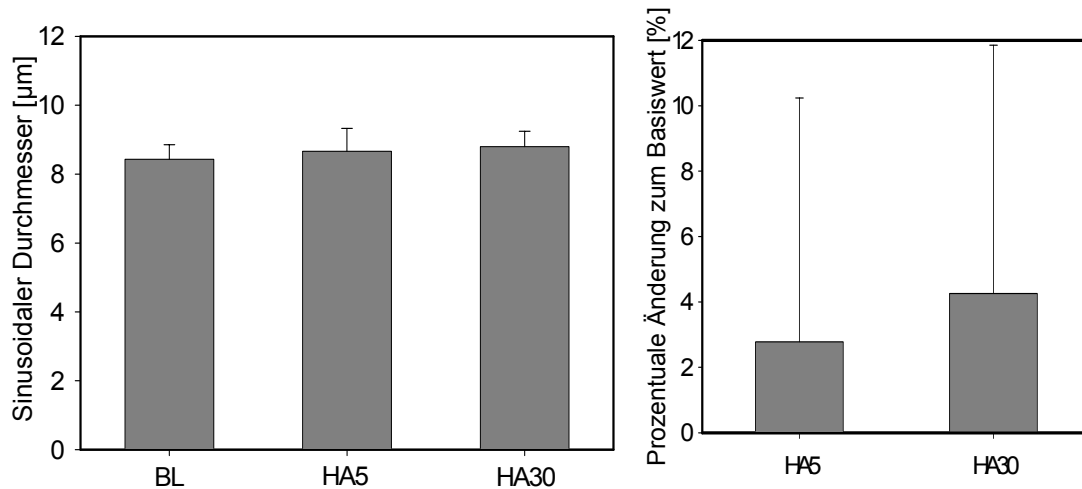


**Abbildung 21:** Die hepatische Mikrozirkulation der humanen Leber nach links 5 Minuten und rechts 30 Minuten nach simultaner Reperfusion.

### **8.2.2.3 Quantitative Messergebnisse der sinusoidalen Perfusion**

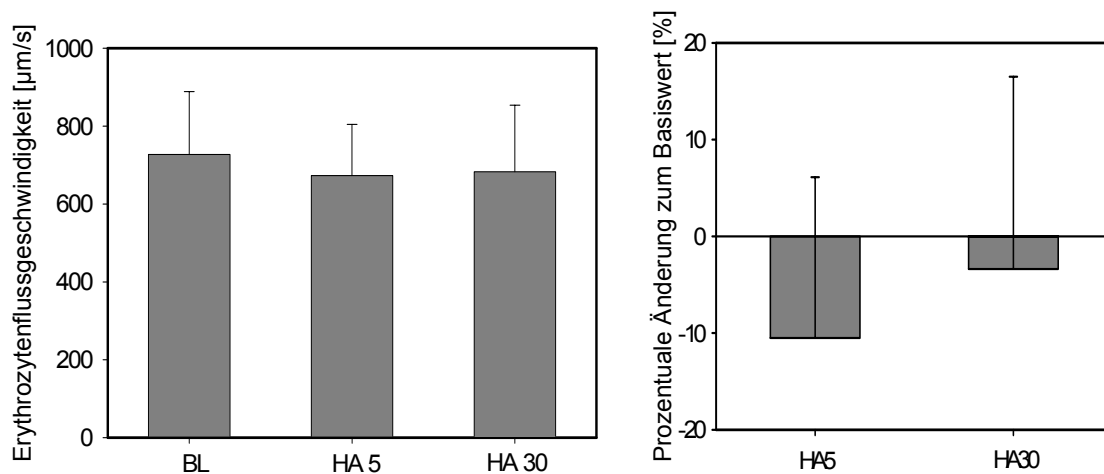
Der Basiswert des sinusoidalen Durchmessers betrug  $8,43 \pm 0,42 \mu\text{m}$ . Nach Transplantation und anschließender simultaner Reperfusion erhöhte sich der Durchmesser auf  $8,66 \pm 0,67 \mu\text{m}$  5 Minuten nach Reperfusion und  $8,80 \pm 0,44 \mu\text{m}$

30 Minuten nach Reperfusion. Dies stellt eine minimale Zunahme von  $2,78 \pm 7,46 \%$  5 Minuten nach Reperfusion und  $4,26 \pm 7,59 \%$  30 Minuten nach Reperfusion dar.



**Abbildung 22:** Links: Der sinusoidale Durchmesser der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL) sowie 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion in [µm]. Rechts: Die zweite Abbildung zeigt die prozentuale Änderung zum Basiswert.

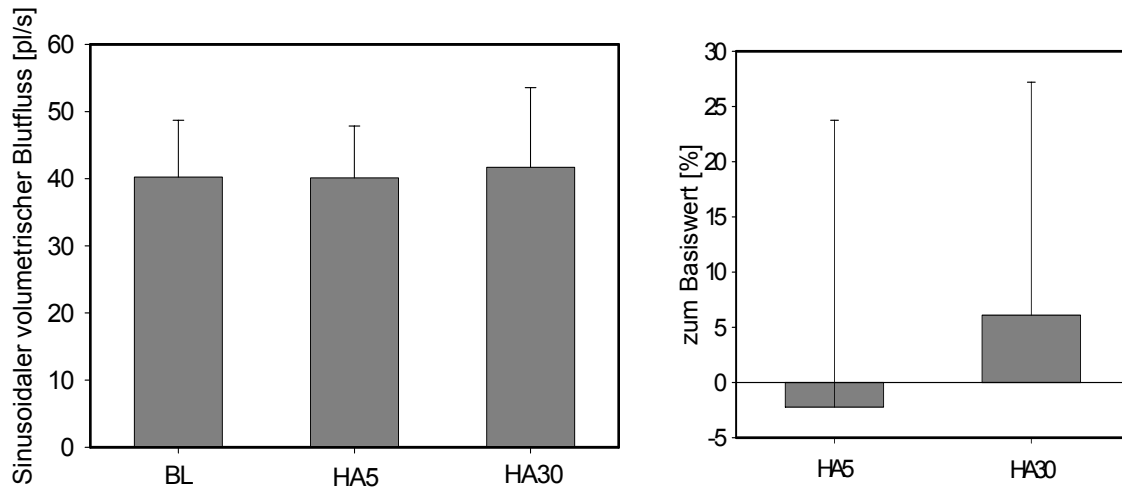
Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV) nahm von  $727 \pm 161 \mu\text{m/s}$  auf  $672 \pm 132 \mu\text{m/s}$  5 Minuten nach Reperfusion und  $682 \pm 171 \mu\text{m/s}$  30 Minuten nach Reperfusion ab. Dies entspricht einer Abnahme von  $-10,5 \pm 16,6 \%$  und  $-3,4 \pm 19,9 \%$



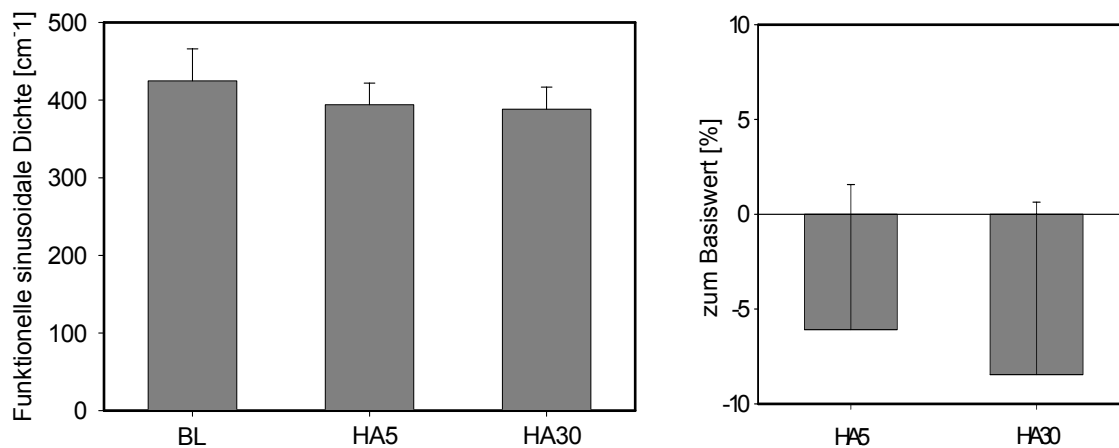
**Abbildung 23:** Links: Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion in [µm/s]. Rechts: Die zweite Abbildung zeigt die prozentuale Änderung zum Basiswert.

Der physiologische volumetrische Blutfluss wurde in der Gruppe der simultanen Reperfusion mit  $40,2 \pm 8,5 \text{ pl/s}$  errechnet. 5 Minuten nach simultaner Reperfusion blieb

er annähernd gleich mit  $40,1 \pm 7,7$  pl/s ( $- 2,2 \pm 26,0$  %). 30 Minuten nach simultaner Reperfusion war ein Anstieg um  $6,1 \pm 21,1$  % auf  $41,7 \pm 11,9$  pl/s zu verzeichnen.

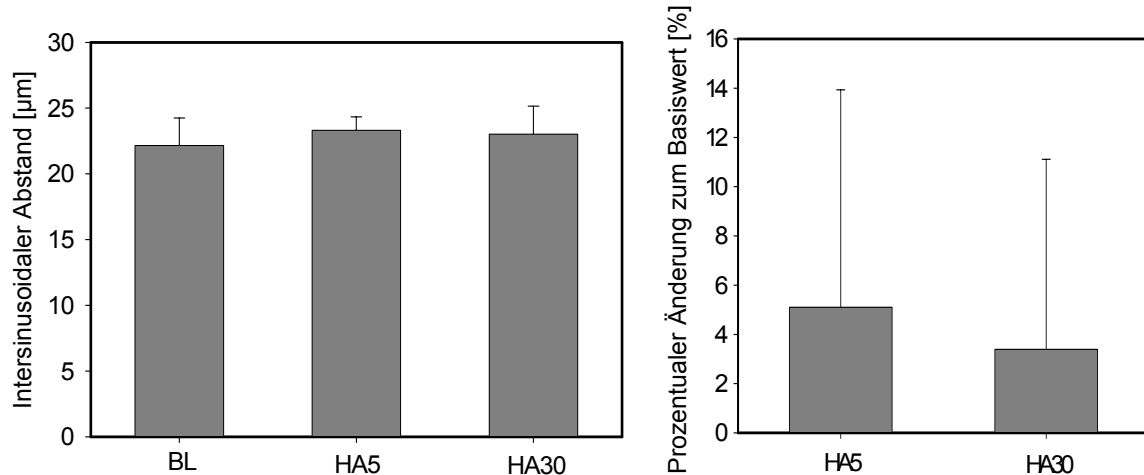


**Abbildung 24:** Links: Sinusoidaler volumetrischer Blutfluss [pl/s] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des sinusoidalen volumetrischen Blutflusses zum physiologischen Basiswert.



**Abbildung 25:** Links: Funktionelle sinusoidale Dichte [cm<sup>-1</sup>] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] der funktionellen sinusoidalen Dichte zum physiologischen Basiswert.

Die funktionelle sinusoidale Dichte wurde unter physiologischen Bedingungen mit  $424,8 \pm 41,1$  cm<sup>-1</sup> gemessen. 5 Minuten nach simultaner Reperfusion nahm sie um  $- 6,1 \pm 7,6$  % auf  $394,0 \pm 27,8$  cm<sup>-1</sup> ab. Auch 30 Minuten nach Reperfusion war sie um  $- 8,5 \pm 9,1$  % auf  $388,2 \pm 28,5$  cm<sup>-1</sup> vermindert.



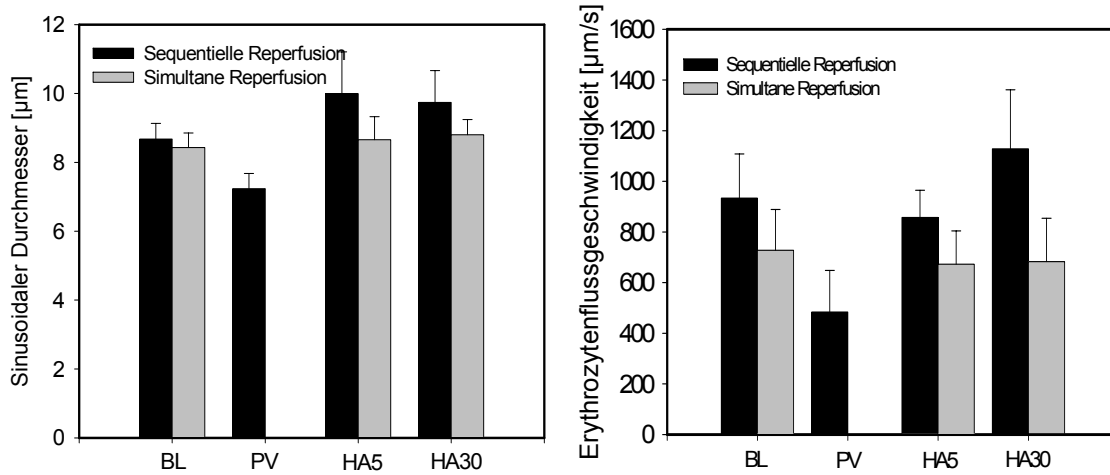
**Abbildung 26:** Intersinusoidaler Abstand [µm] in der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des intersinusoidalen Abstandes zum physiologischen Basiswert.

Der Basiswert des intersinusoidalen Abstands betrug  $22,2 \pm 2,1 \mu\text{m}$ . Er blieb unverändert 5 Minuten nach simultaner Reperfusion mit  $23,3 \pm 1,0 \mu\text{m}$  ( $5,1 \pm 8,8 \%$ ) und 30 Minuten nach simultaner Reperfusion mit  $23,0 \pm 2,1 \mu\text{m}$  ( $3,4 \pm 7,7 \%$ ).

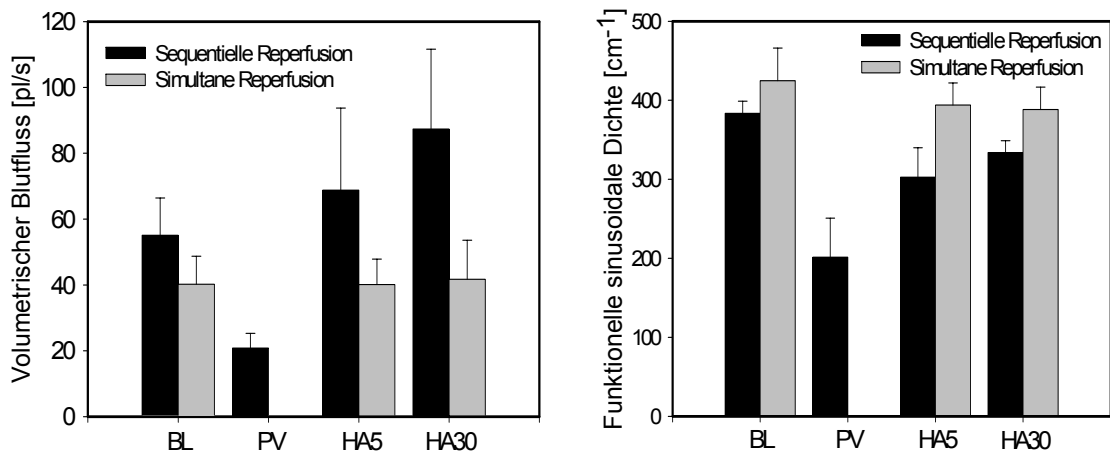
### 8.2.3 Graphische Gegenüberstellung sequentielle versus simultane Reperfusion

Die folgenden Graphen zeigen die Gegenüberstellung der Perfusionsparameter von sequentieller und simultaner Reperfusion. Der sinusoidale Durchmesser ist bei der sequentiellen Reperfusion 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion deutlich erhöht im Vergleich zur simultanen Reperfusion. Auch die Erythrozytenflussgeschwindigkeit ist nach sequentieller Reperfusion im Vergleich zur simultanen Reperfusion erhöht.

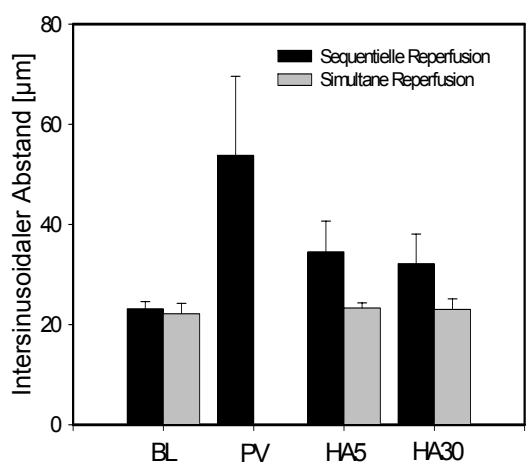
Der volumetrische Blutfluss ist bei der sequentiellen Reperfusion erhöht. Dem gegenüber ist die funktionelle sinusoidale Dichte reduziert. Der intersinusoidale Abstand ist bei der sequentiellen Reperfusion vergrößert. Besonders eindrucksvoll zeigt sich dies bei der alleinigen portalen Reperfusion.



**Abbildung 27: Gegenüberstellung des sinusoidalen Durchmessers (links), der Erythrozytenflussgeschwindigkeit (rechts) bei sequentieller versus simultaner Reperfusion.**



**Abbildung 28: Gegenüberstellung des volumetrischen Blutflusses (links), der funktionellen sinusoidalen Dichte (rechts) bei sequentieller versus simultaner Reperfusion.**



**Abbildung 29: Gegenüberstellung des intersinusoidalen Abstandes bei sequentieller und simultaner Reperfusion**

## 8.2.4 Die Mikrozirkulation bei der orthotropen Lebertransplantation

### 8.2.4.1 Hämodynamische und assoziierte Parameter

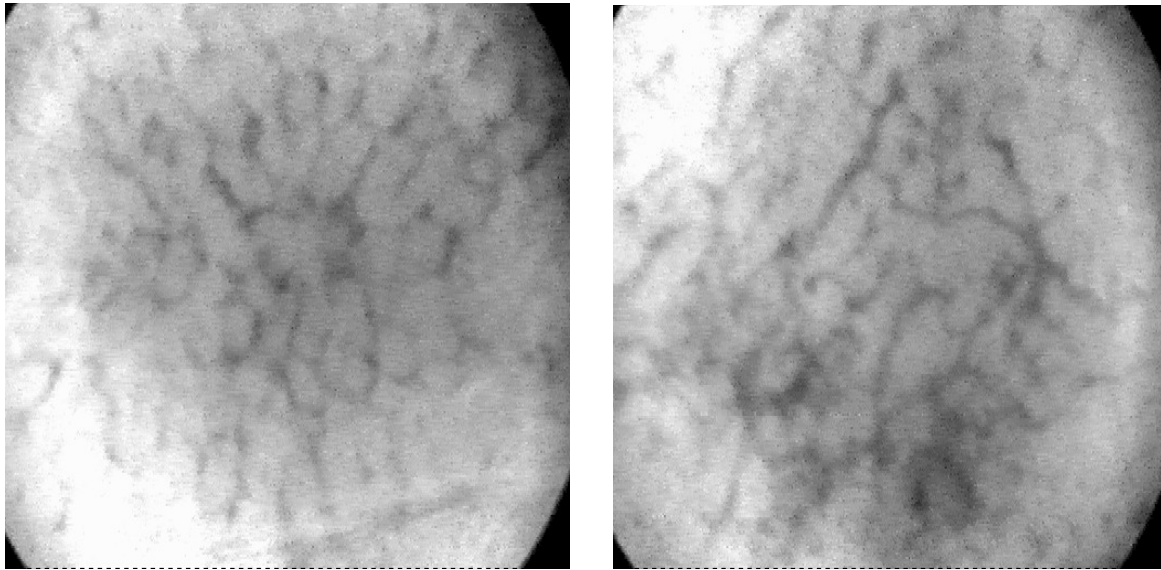
Die folgenden hämodynamisch wirksamen Parameter wurden während der einzelnen mikrozirkulatorischen OPSI – Messungen protokolliert und verhielten sich stabil.

**Tabelle 12: Hämodynamische- und Blutgasparameter während der mikrozirkulatorischen Messintervalle in der Gruppe III – orthotope Lebertransplantationen**

Parameter	Arterielle RP 5 min	Arterielle RP 30 min
RR sys (mmHg)	92 ± 20	98 ± 17
RR dia (mmHg)	46 ± 13	48 ± 10
ZVD (cm H <sub>2</sub> O)	8,0 ± 3,7	7,5 ± 3,0
Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	103 ± 19	100 ± 18
Hämoglobin (mg/dl)	9,6 ± 1,2	9,3 ± 1,0
Sauerstoffsätt. (%)	99 ± 1	99 ± 1
EtCO <sub>2</sub> (Vol%)	4,7 ± 0,7	4,5 ± 0,4
PO <sub>2</sub> (mmHg)	201 ± 82	177 ± 44
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	39 ± 10	40 ± 6
pH	7,33 ± 0,07	7,36 ± 0,05

### 8.2.4.2 Qualitative Beurteilung der Perfusion

Zum Messzeitpunkt 5 Minuten nach simultaner Reperfusion ist der überwiegende Teil der Sinusoide bereits perfundiert, jedoch sind stellenweise noch Erythrozytenaggregate, die teilweise zum vollständigen Verschluss einzelner Sinusoide führen, erkennbar. 30 Minuten nach Reperfusion ist eine zunehmende Homogenisierung der Mikrozirkulation eingetreten.



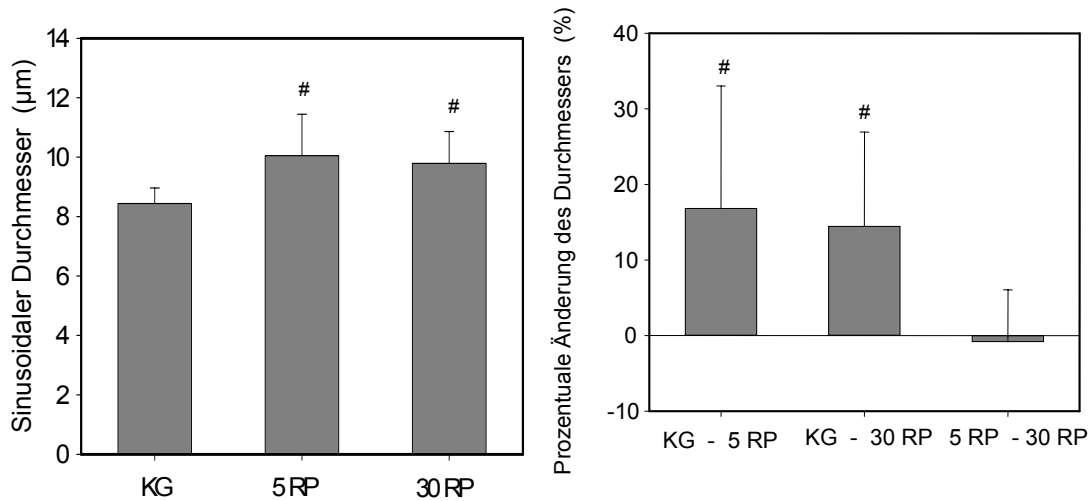
**Abbildung 30: OPS-Bildgebung nach orthotroper Lebertransplantation. Links: 5 Minuten nach simultaner Reperfusion, rechts: 30 Minuten nach simultaner Reperfusion. 5 Minuten nach Reperfusion zeigt sich eine noch relativ inhomogene Perfusion, die in eine mehr homogene Perfusion mit deutlich mehr perfundierten Sinusoiden 30 Minuten nach Reperfusion übergeht.**

#### **8.2.4.3 Quantitative Messergebnisse der sinusoidalen Perfusion**

Die quantitativen Messungen wurden 5 Minuten und 30 Minuten nach simultaner Reperfusion der Vena portae und der Arteria hepatica durchgeführt. Zur Beurteilung ischämie- und reperfusionsbedingter Veränderungen mikrozirkulatorischer Parameter wurden die erhobenen Messwerte physiologischen Normalwerten von 32 Leberlebend Spendern gegenübergestellt.

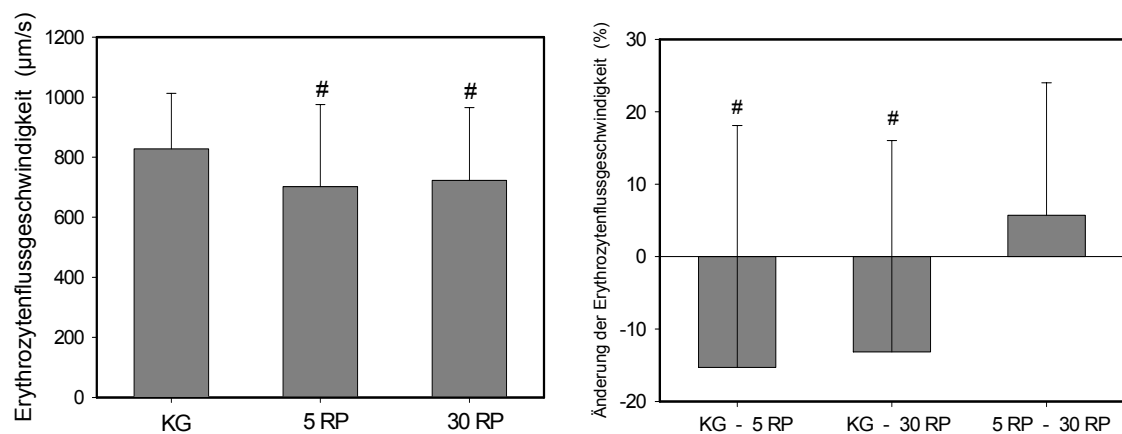
Der sinusoidale Durchmesser betrug 5 Minuten nach Reperfusion  $10,0 \pm 1,4 \mu\text{m}$  und 30 Minuten nach Reperfusion  $9,8 \pm 1,1 \mu\text{m}$ . Dies entspricht einer prozentualen Zunahme von  $17 \pm 16 \%$  und  $15 \pm 13\%$  gegenüber dem Basiswert der Kontrollgruppe von  $8,4 \pm 0,5\mu\text{m}$ .





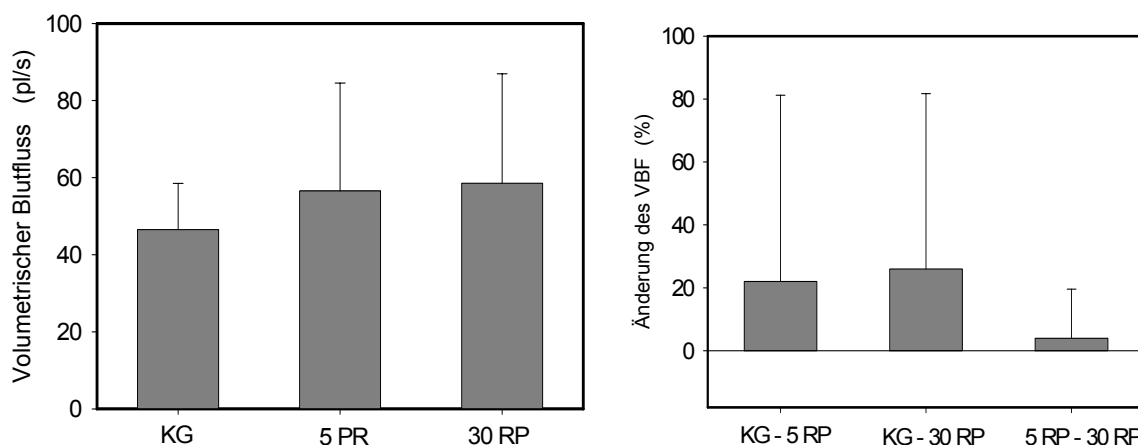
**Abbildung 31:** Links: Der sinusoidale Durchmesser in der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (Kontrollgruppe (KG)), 5 Minuten (5 RP) und 30 Minuten (30 RP) nach simultaner Reperfusion der transplantierten full-size Leber in  $\mu\text{m}$ . Rechts: Die Abbildung zeigt die prozentuale Änderung zur Kontrollgruppe und zwischen den beiden Messzeitpunkten 5 und 30 Minuten nach Reperfusion. # = Signifikant mit  $p < 0,05$  zum Messwert der Kontrollgruppe.

Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV) betrug 5 Minuten nach Reperfusion  $702 \pm 273 \mu\text{m/s}$  und 30 Minuten nach Reperfusion  $723 \pm 243 \mu\text{m/s}$ . In der Kontrollgruppe betrug sie  $828 \pm 185 \mu\text{m/s}$ . Somit ist die RBCV 5 Minuten nach Reperfusion um  $15 \pm 33\%$  bzw. 30 Minuten nach Reperfusion um  $13 \pm 29\%$  reduziert. Die RBCV nahm um  $6 \pm 18\%$  zwischen den Messzeitpunkten 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion zu.



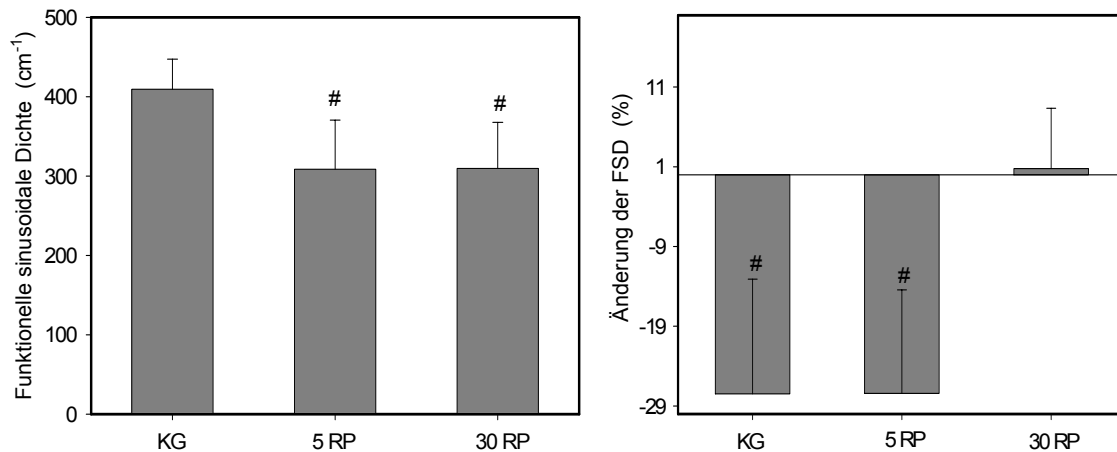
**Abbildung 32:** Links: Erythrozytenflussgeschwindigkeit [ $\mu\text{m/s}$ ] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (KG), 5 Minuten (5RP) und 30 Minuten (30RP) nach erfolgter simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] der Erythrozytenflussgeschwindigkeit bezogen auf die Kontrollgruppe und zwischen 5 und 30 Minuten nach Reperfusion. # =  $p < 0,05$  versus Kontrollgruppe.

Der aus der RBCV und dem sinusoidalen Durchmesser resultierende volumetrische Blutfluss (VBF) in den einzelnen Sinusoiden war um 22 % auf  $56,6 \pm 28,0$  pl/s 5 Minuten nach Reperfusion und um 26 % auf  $58,6 \pm 28,4$  pl/s nach 30 Minuten Reperfusion vom Basiswert  $46,5 \pm 12,0$  pl/s der Kontrollgruppe erhöht. Die Zunahme des VBF zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion betrug  $4 \pm 16$  %.

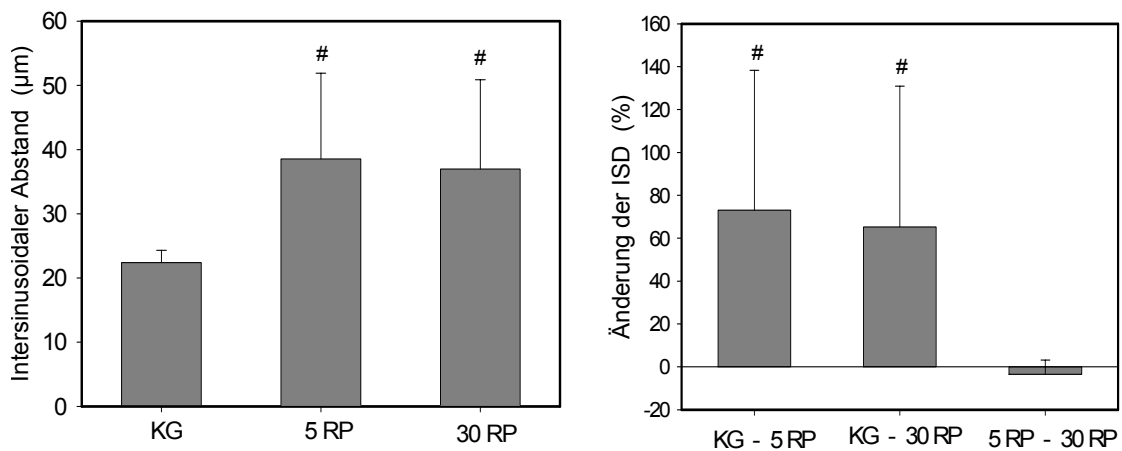


**Abbildung 33:** Links: Sinusoidaler volumetrischer Blutfluss [pl/s] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (KG), 5 Minuten (5 RP) und 30 Minuten (30 RP) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des sinusoidalen volumetrischen Blutflusses zur Kontrollgruppe und zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion.

Im Gegensatz zum VBF nahm die funktionelle sinusoidale Dichte (FSD) vom Bezugswert  $409 \pm 38$  cm<sup>-1</sup> auf  $309 \pm 62$  cm<sup>-1</sup> 5 Minuten nach Reperfusion und  $310 \pm 58$  cm<sup>-1</sup> 30 Minuten nach Reperfusion ab. Dies entspricht einer prozentualen Änderung von  $-27,5 \pm 14,4$  % und  $-27,4 \pm 13,0$  %. Die FSD bleibt im Messintervall zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion unverändert ( $+0,8 \pm 7,6$  %). Der die Parenchymschwellung widerspiegelnde intersinusoidale Abstand (ISD) nahm vom Basiswert  $22,4 \pm 1,9$  µm der Kontrollgruppe auf  $38,5 \pm 13,4$  µm 5 Minuten und  $37,0 \pm 13,0$  µm 30 Minuten nach Reperfusion zu.



**Abbildung 34:** Links: Funktionelle sinusoidale Dichte [ $\text{cm}^{-1}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (KG) sowie 5 Minuten (5 RP) und 30 Minuten (30 RP) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] der funktionellen sinusoidalen Dichte zur Kontrollgruppe und zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion. # =  $p < 0,05$  versus Kontrollgruppe



**Abbildung 35:** Intersinusoidaler Abstand [ $\mu\text{m}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (KG) sowie 5 Minuten (5 RP) und 30 Minuten (30 RP) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des intersinusoidalen Abstandes zum physiologischen Basiswert der Kontrollgruppe und zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion. # =  $p < 0,05$  versus Kontrollgruppe

#### 8.2.4.4 Korrelationen zwischen den einzelnen mikrozirkulatorischen Parametern

Mit Hilfe der Pearson Produkt Moment Korrelation wurde eine inverse Korrelation ( $p < 0,05$ ) zwischen der FSD und dem VBF mit  $r = - 0,744$  5 Minuten und  $r = - 0,662$  30 Minuten nach Reperfusion ermittelt. Mit zunehmender funktioneller sinusoidaler Dichte nimmt der volumetrische Blutfluss in den einzelnen Sinusoiden ab.

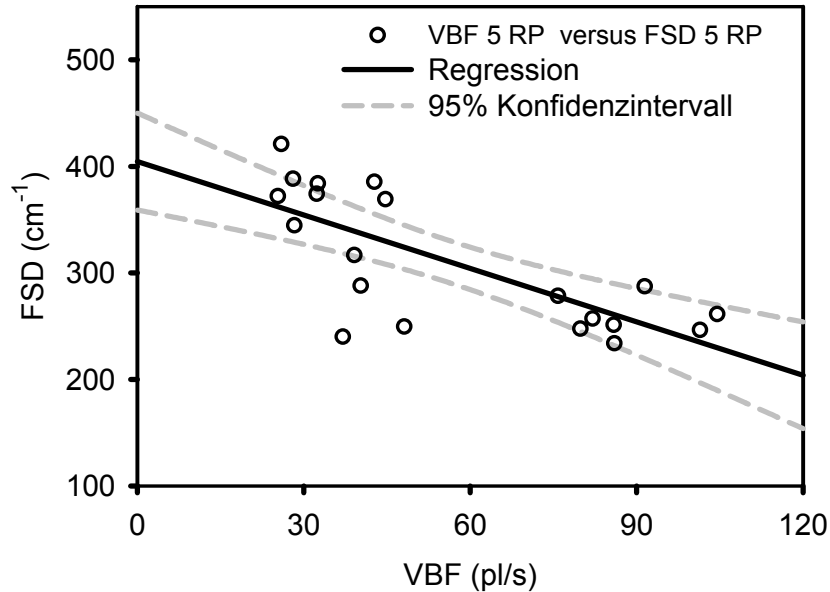
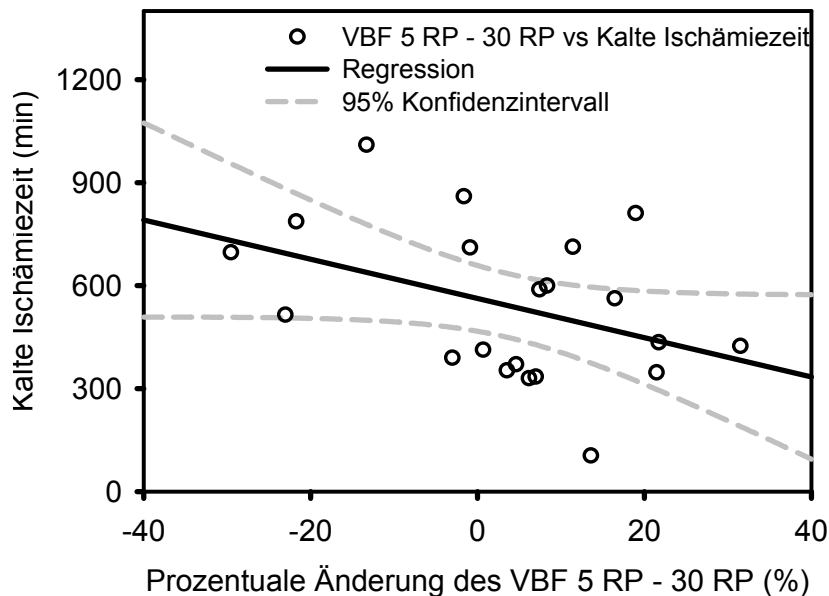


Abbildung 36: Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zeigt eine inverse Korrelation zwischen VBF und FSD mit  $r = - 0,744$  ( $p < 0,05$ ) 5 Minuten nach Reperfusion.

#### 8.2.4.5 Korrelation zwischen Perfusionsparametern und transplantations-technischen Daten

Es besteht keine direkte Korrelation zwischen der kalten Ischämiezeit des Transplantats und der funktionellen sinusoidalen Dichte oder dem volumetrischen Blutfluss. Jedoch besteht eine schwache, aber signifikante Korrelation zwischen der kalten Ischämiezeit und der prozentualen Zunahme des volumetrischen Blutflusses zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion mit  $r = - 0,402$  ( $p < 0,05$ ). Das bedeutet, je länger die kalte Ischämiezeit, desto langsamer ist die Progression des nutritiv bedeutsamen volumetrischen Blutflusses.

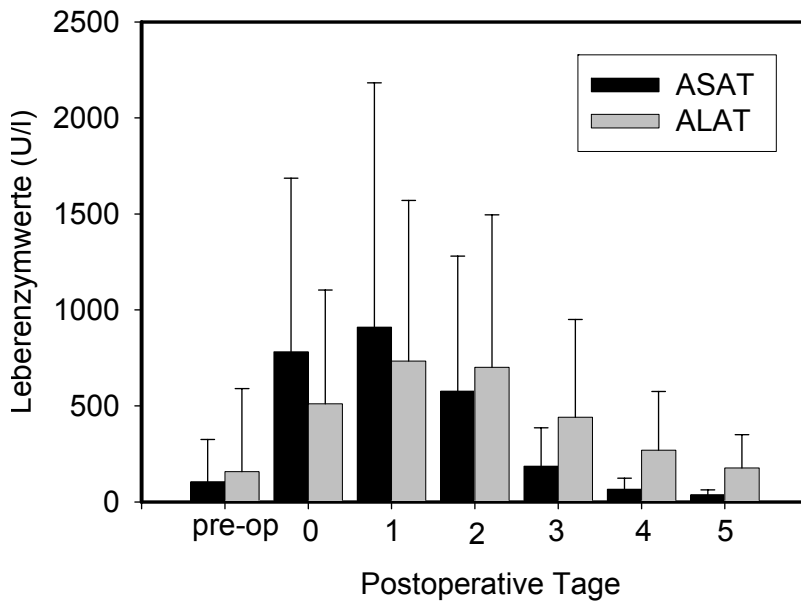


**Abbildung 37:** Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zeigt eine schwach inverse Korrelation zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses (VBF) im Zeitintervall zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion und der kalten Ischämiezeit mit  $r = -0,402$  ( $p < 0,05$ ).

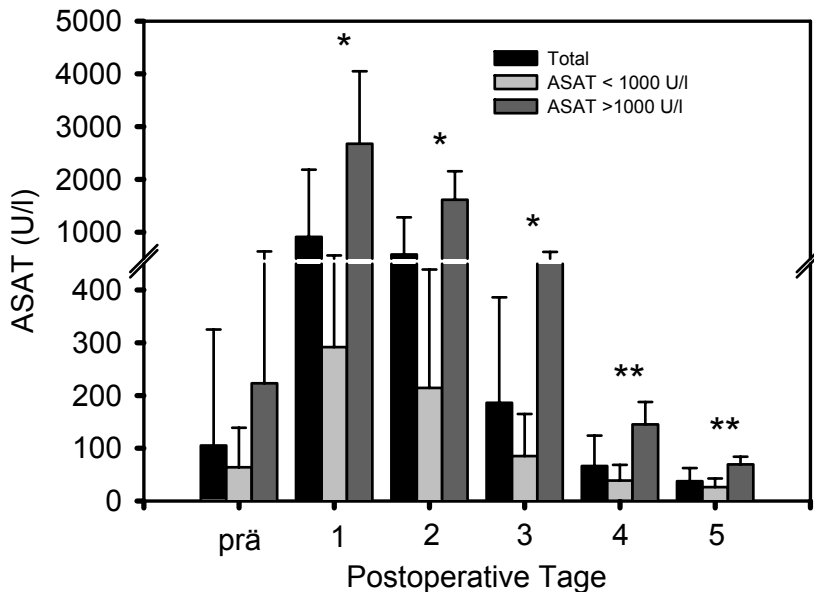
Es gab keine signifikanten Korrelationen zwischen den post-ischämischen mikrozirkulatorischen Parametern und der Zeitdauer der anhepatischen Phase, dem Empfängeralter und Spenderalter oder der Zeitdauer des Intensivstationaufenthaltes des Spenders vor Transplantatentnahme.

#### 8.2.4.6 Postoperative Analyse der laborchemischen Leberfunktionswerte

Die postoperativen Aspartat-Amino-Transferase (ASAT) - Werte erreichten ihren Maximalwert mit  $910 \pm 1273$  U/l bereits am ersten postoperativen Tag (POT1). Der Alanin-Amino-Transferase (ALAT)- Verlauf ähnelt dem ASAT-Verlauf (siehe Grafik). Eine detaillierte Datenaufschlüsselung zeigte, dass 20 Patienten maximale ASAT-Werte unter 1000 U/l ( $292 \pm 267$  U/l) aufwiesen. Denen gegenüber hatten lediglich sieben Patienten ASAT-Werte, die die 1000 U/l - Marke überstiegen ( $2675 \pm 1373$  U/l). Die Betrachtung der ASAT-Werte beider Patientengruppen innerhalb der ersten 5 postoperativen Tage ergibt signifikante Unterschiede.



**Abbildung 38:** Darstellung des postoperativen Verlaufs der ASAT- und ALAT- Werte innerhalb der ersten 5 postoperativen Tage. Bereits am 1. POT erreichen beide Parameter ihren Maximalwert.



**Abbildung 39:** Darstellung des postoperativen ASAT- Verlaufs mit Aufteilung in zwei Gruppen mit einem Schwellenwert von 1000 U/l. Innerhalb der ersten fünf POT differiert signifikant der Verlauf der Gruppe mit ASAT-Werten über 1000 U/l gegenüber der Gruppe mit ASAT-Werten unter 1000 U/l.

Der Leberfunktionsparameter Bilirubin zeigte signifikante Differenzen zwischen den beiden Gruppen ASAT – Werte < 1000 U/l versus > 1000 U/l nur an den POT 2 und POT 3, nicht aber an den POT 1, 4 und 5.

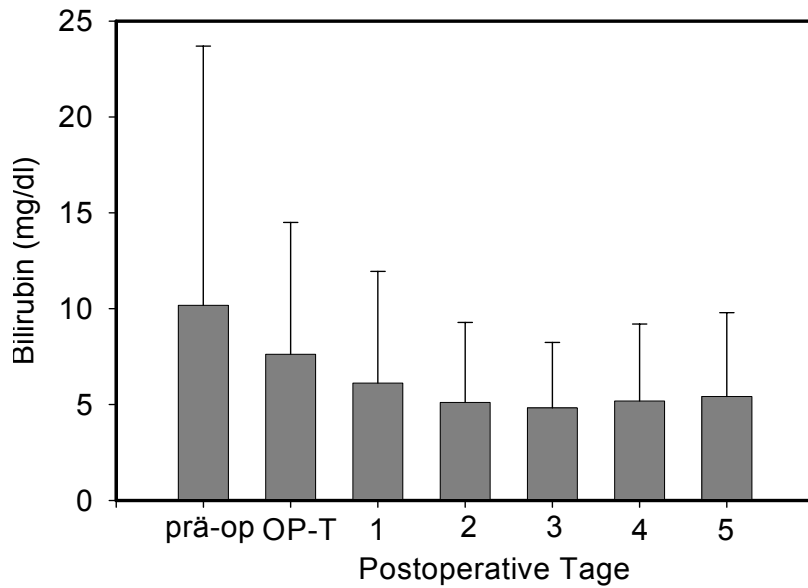


Abbildung 40: Darstellung des postoperativen Verlaufs des Gesamtbilirubin innerhalb der ersten fünf POT nach orthotoper Lebertransplantation in der Gesamtgruppe (27 Patienten).

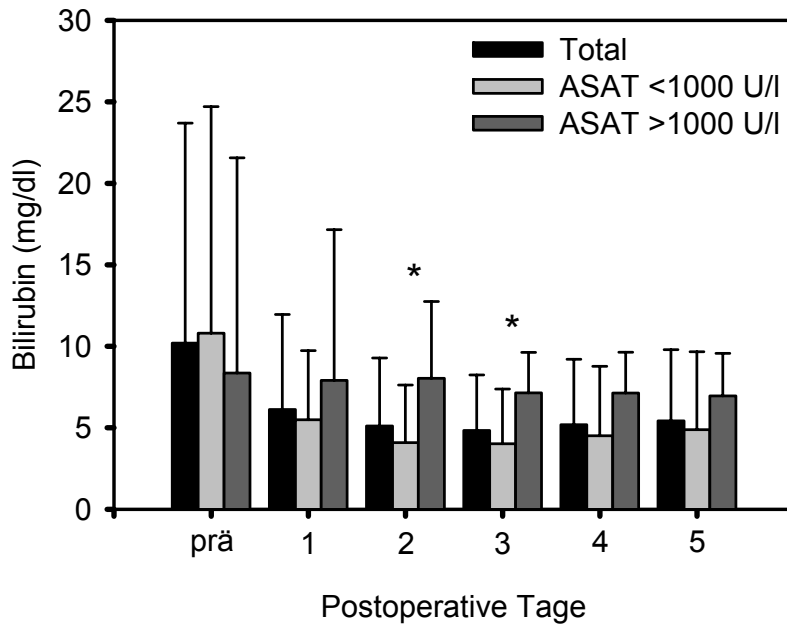


Abbildung 41: Darstellung des Bilirubinverlaufs in den beiden Gruppen ASAT – Werte < 1000 U/l versus > 1000 U/l. Signifikante Differenzen (\*) des Bilirubinwertes zwischen den beiden Gruppen treten nur an den POT 2 und POT 3 auf.

### 8.2.4.7 Einfluss transplantationsspezifischer Daten auf Ischämie/Reperfusionsschäden

Die mittlere kalte Ischämiezeit betrug  $555 \pm 207$  Minuten. Es gab keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,264$ ) der kalten Ischämiezeit zwischen der ASAT - Gruppe  $< 1000$  U/l ( $522 \pm 192$  min) und der ASAT – Gruppe mit Maximalwerten  $> 1000$  U/l ( $648 \pm 235$  min). Weiterhin bestanden keine Differenzen zwischen den beiden ASAT – Gruppen in Hinblick auf Alter des Spenders, Alter des Empfängers, Dauer der anhepatischen Phase oder Zeitdauer der intensivmedizinischen Behandlung (IST) des Spenders.

**Tabelle 13: Tabellarische Übersicht transplantationsspezifischer Daten in der OLTX – Gesamtgruppe und Aufschlüsselung der Daten in den ASAT- spezifischen Untergruppen.**

Parameter	Gesamtgruppe	Gruppe mit ASAT $< 1000$ U/l	Gruppe mit ASAT $> 1000$ U/l
Anzahl Patienten	27	20	7
Spenderalter (Jahren)	$43 \pm 22$	$46 \pm 21$	$36 \pm 26$
Spender IST – Dauer (h)	$140 \pm 207$	$129 \pm 216$	$174 \pm 187$
Kalte Ischämiezeit (min)	$555 \pm 207$	$522 \pm 192$	$648 \pm 235$
Anhepatische Phase (min)	$82 \pm 29$	$81 \pm 29$	$84 \pm 31$

### 8.2.4.8 Einfluss der kalten Ischämiezeit auf I/R-Schäden und die Leberfunktion

Es besteht kein Zusammenhang zwischen der kalten Ischämiezeit und den ASAT-Werten am ersten und zweiten postoperativen Tag. Jedoch besteht eine positive Korrelation zwischen der kalten Ischämiezeit und den ASAT – Werten an den POT 3 - 5 ( $p < 0,05$ ) sowohl im gesamten Patientenkollektiv als auch in den Teilgruppen mit maximalen ASAT – Werten  $< 1000$  U/l bzw.  $> 1000$  U/l.



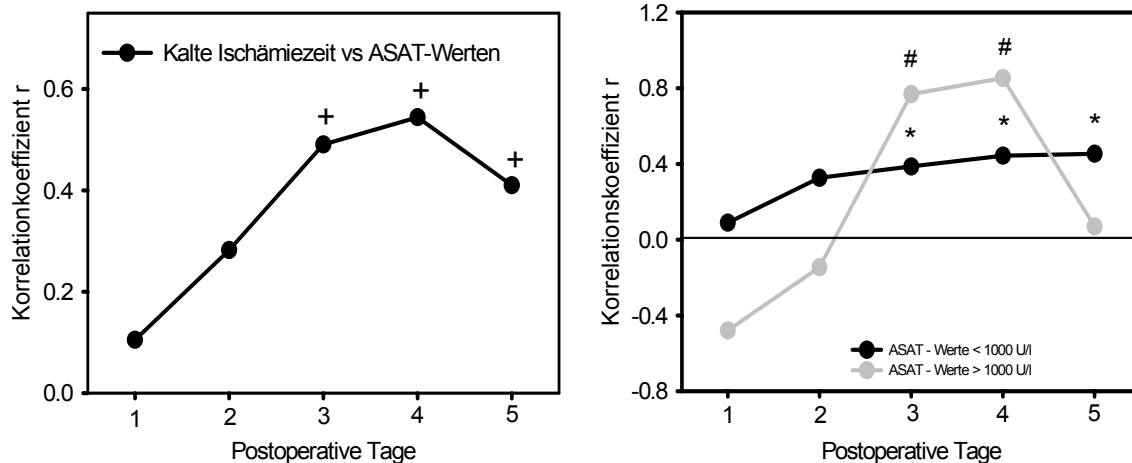


Abbildung 42: Links: Zusammenhang zwischen der kalten Ischämiezeit und den postoperativen ASAT - Werten der Gesamtgruppe mit einer positiven Korrelation ( + ) an den POT 3-5. Rechts: Zusammenhang zwischen der kalten Ischämiezeit und den postoperativen ASAT – Werten der Untergruppen mit maximalen ASAT – Werten < 1000 U/l und > 1000 U/l. In der Gruppe < 1000 U/l besteht eine positive Korrelation ( \* ) an den POT 3-5, in der Gruppe > 1000 U/l besteht eine positive Korrelation ( # ) an den POT 3 und 4 ( p < 0,05).

Die postoperativen Bilirubinwerte zeigen eine positive Korrelation (p < 0,05) mit der kalten Ischämiezeit am 4. postoperativen Tag mit r = 0,414.

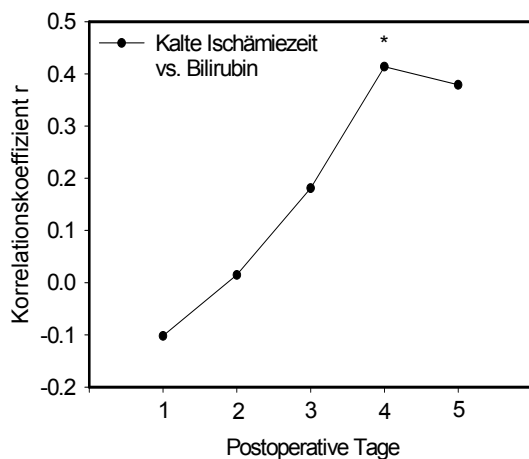


Abbildung 43: Zusammenhang zwischen kalter Ischämiezeit und postoperativen Bilirubinwerten. Am 4. POT besteht eine positive Korrelation ( p < 0,05) mit r = 0,414.

### 8.2.4.9 Einfluss der hepatischen Mikrozirkulation auf I/R – Schäden und die Leberfunktion

Die Pearson Produkt Moment Korrelation zeigte eine inverse Korrelation zwischen postoperativen ASAT – Werten und der FSD 5 und 30 Minuten nach Reperfusion. Es bestand eine signifikante Korrelation ( $p < 0,05$ ) zwischen den ASAT – Werten und der FSD 5 Minuten nach Reperfusion an den POT 3 – 5 und für die FSD 30 Minuten nach Reperfusion an den POT 4 und 5.

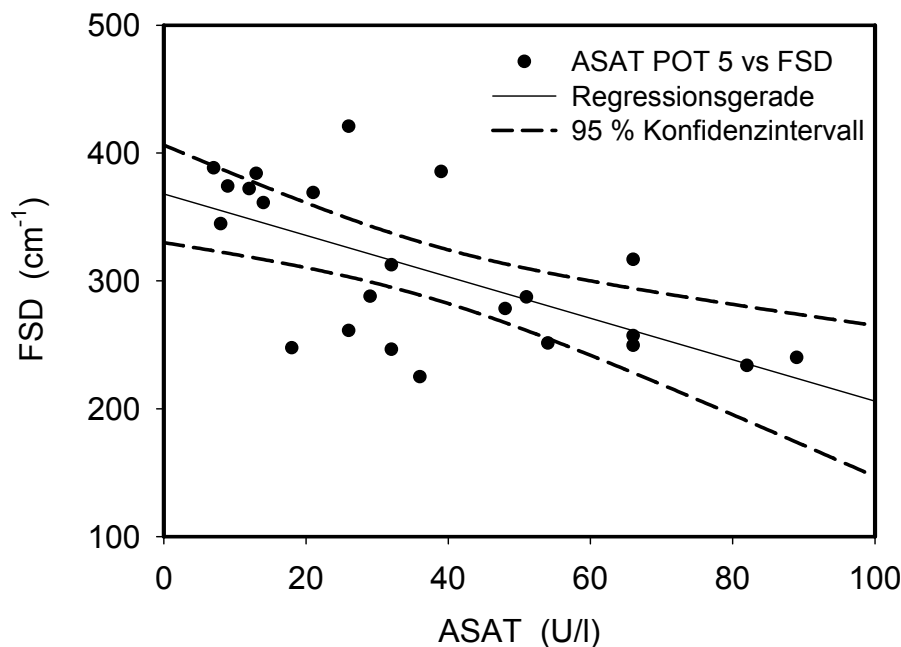


Abbildung 44: Korrelation zwischen der FSD und ASAT am Beispiel des 5. postoperativen Tages.

In den beiden ASAT – Gruppen mit den Schwellenwerten  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l bestand ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen den postoperativen ASAT – Werten und der initialen FSD. Jedoch waren die Differenzen der FSD zwischen den beiden ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l nicht signifikant (FSD 5 RP  $321 \pm 63$  cm<sup>-1</sup> vs.  $266 \pm 35$  cm<sup>-1</sup> und FSD 30 RP  $325 \pm 60$  cm<sup>-1</sup> vs.  $278 \pm 43$  cm<sup>-1</sup>).

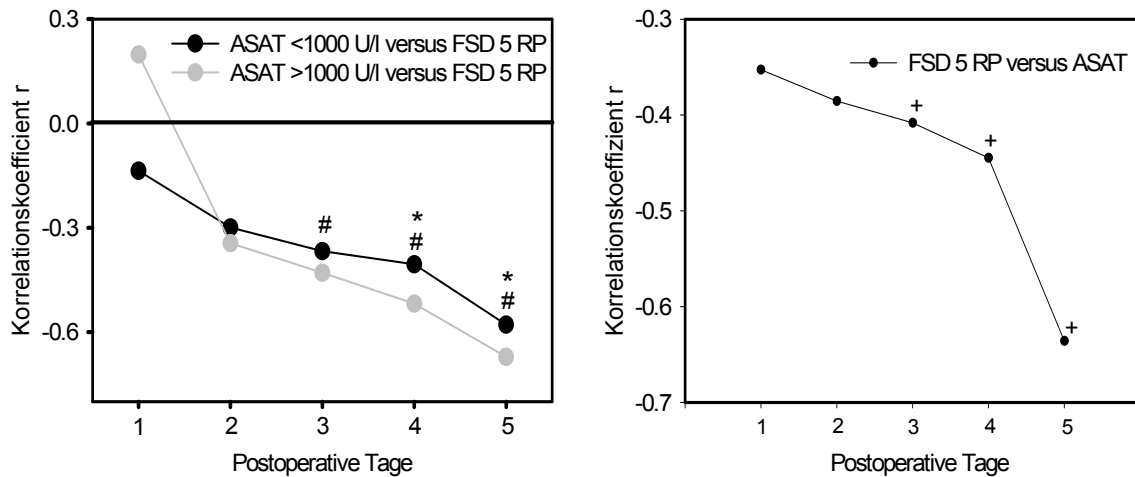


Abbildung 45 : Links: Darstellung der Korrelationskoeffizienten  $r$  zwischen der FSD 5 Minuten nach Reperfusion und den postoperativen ASAT – Werten. Rechts: Darstellung der Korrelationskoeffizienten  $r$  der beiden ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l versus FSD 5 Minuten nach Reperfusion #,\*,+ = signifikant mit  $p < 0,05$ .

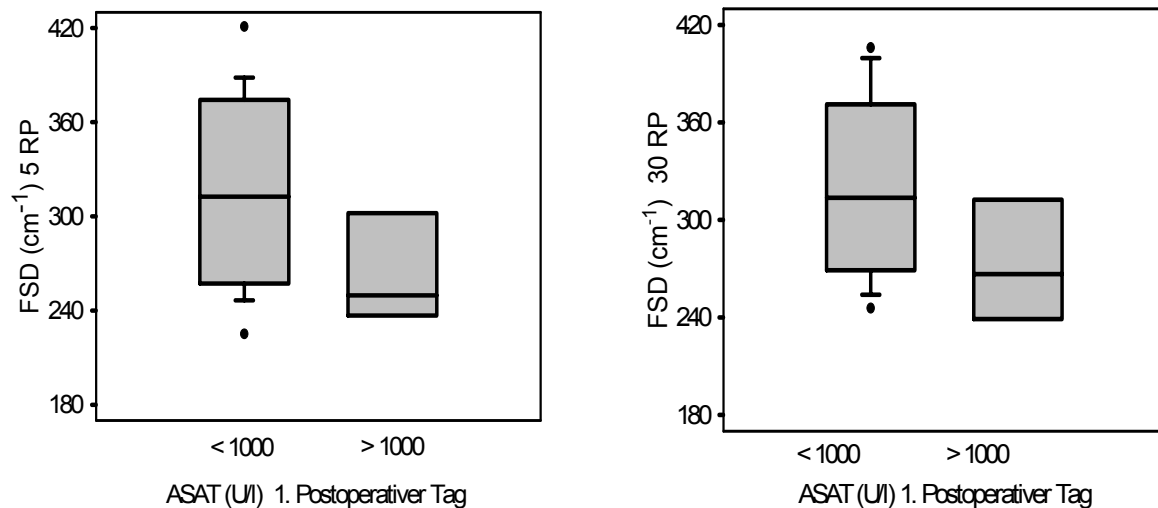
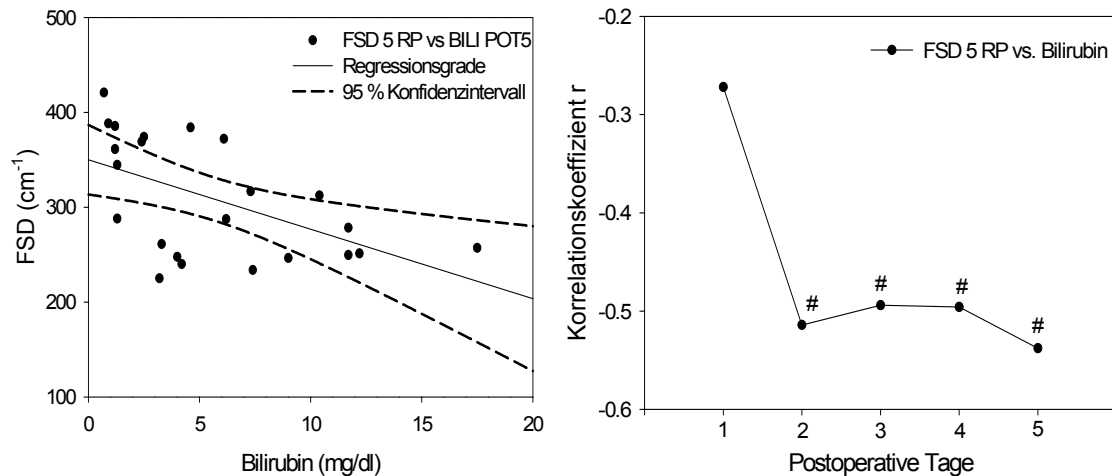


Abbildung 46: Darstellung der FSD in den beiden ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l am 1. POT 5 Minuten nach Reperfusion (links) und 30 Minuten nach Reperfusion (rechts). Die FSD – Werte unterschieden sich nicht signifikant zwischen den ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l.

Analog dazu verhielten sich auch die postoperativen Bilirubinwerte. Je höher die initialen FSD – Werte 5 und 30 Minuten nach Reperfusion, desto niedriger die postoperativen Bilirubinlevel. Die Regressionskoeffizienten betragen am POT 2  $r = - 0,514$  und  $- 0,564$  ( $p < 0,05$ ), am POT 3  $r = - 0,494$  und  $- 0,528$  ( $p < 0,05$ ), am

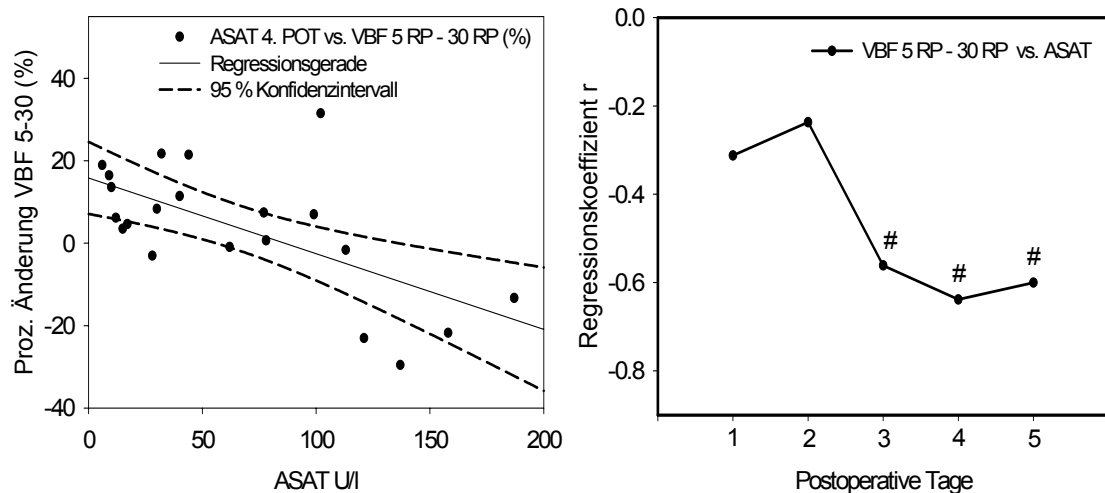
POT 4  $r = -0,496$  und  $-0,504$  ( $p < 0,05$ ) und am POT 5  $r = -0,538$  und  $-0,578$  ( $p < 0,05$ ).



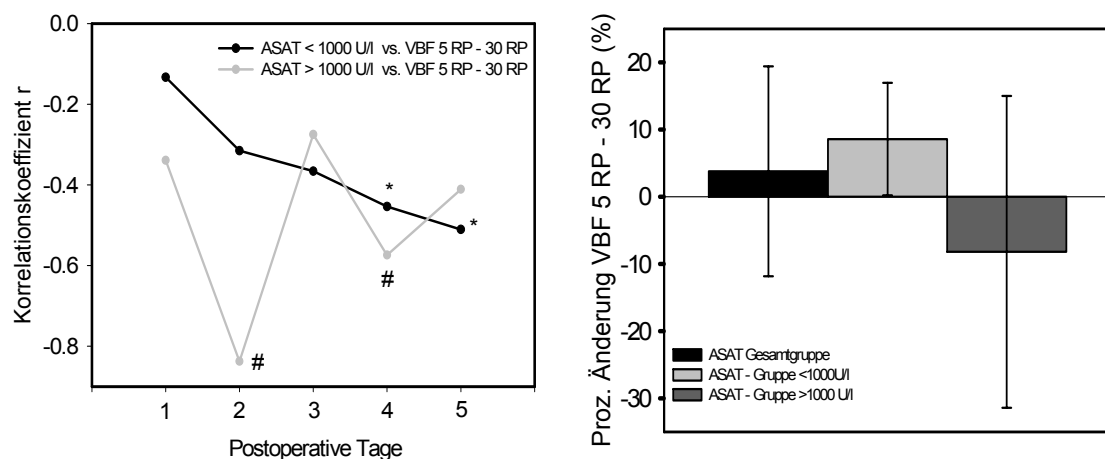
**Abbildung 47:** Links: Korrelation zwischen FSD 5 RP versus Bilirubin am Beispiel des 5. postoperativen Tages. Rechts: Korrelationskoeffizienten  $r$  zwischen FSD 5 RP und Bilirubin an den postoperativen Tagen, # = signifikant mit  $p < 0,05$ .

Der volumetrische Blutfluss (VBF) korrelierte nicht direkt mit den postoperativen Bilirubinwerten oder ASAT – Werten. Ein signifikanter Zusammenhang bestand jedoch zwischen der prozentualen Änderung des VBF zwischen den 5 und 30 Minuten Reperfusionssmesswerten (5 RP – 30 RP) und der postoperativen Enzymfreisetzung bzw. den Bilirubinwerten. Es besteht eine inverse Korrelation zwischen der prozentualen Änderung VBF 5 RP – 30 RP und den ASAT – Werten an den postoperativen Tagen 3 – 5 ( $p < 0,05$ ). Analog verhielten sich auch die beiden Gruppen ASAT – Werte  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l.

Auch die Messwerte der prozentualen Änderung VBF 5 RP – 30 RP differierten signifikant in den beiden ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l mit  $8,6 \pm 8,4$  % versus  $-8,2 \pm 23,2$  % ( $p < 0,05$ ).

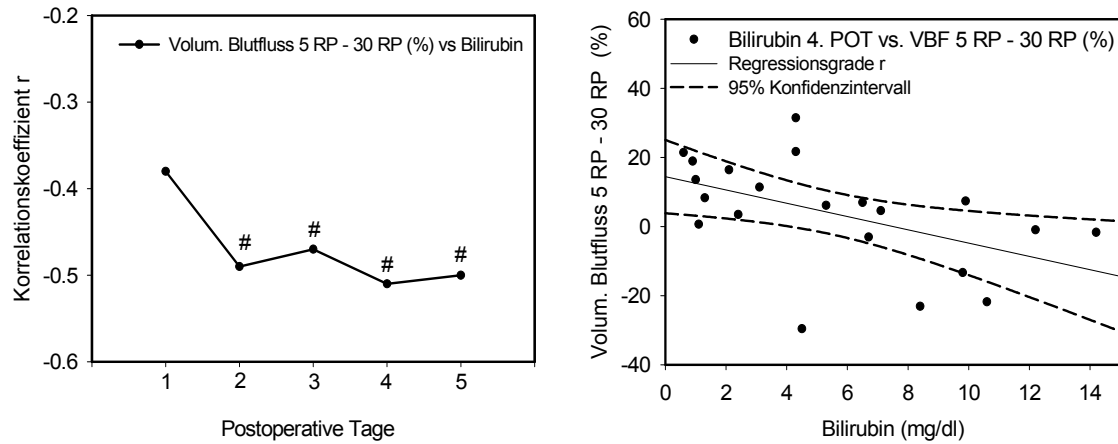


**Abbildung 48:** Links: Korrelation zwischen den ASAT – Werten am 4. POT und der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses zwischen 5 und 30 Minuten nach Reperfusion. Rechts: Regressionskoeffizienten  $r$  zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses 5 RP – 30 RP und den postoperativen ASAT – Werten (# = signifikant mit  $p < 0,05$ ).



**Abbildung 49:** Regressionskoeffizienten  $r$  zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses 5 RP – 30 RP und den ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l (\*, # = signifikant mit  $p < 0,05$ ). Rechts: Signifikante Differenz ( $p < 0,05$ ) der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses zwischen den beiden ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l.

Korrespondierend korrelierten auch die Bilirubinwerte mit der prozentualen Änderung VBF 5 RP – 30 RP an den POT 2 ( $r = -0,489$ ), POT 3 ( $r = -0,471$ ), POT 4 ( $r = -0,501$ ) und POT 5 ( $r = -0,429$ ).



**Abbildung 50:** Links: Darstellung der Regression zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses 5 RP - 30 RP und Bilirubin am 4 POT. Rechts: Darstellung der Korrelationskoeffizienten zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses 5 RP - 30 RP und den postoperativen Bilirubinwerten.

## 9 Diskussion

Veränderungen der Mikrozirkulation stellen wesentliche physiologische und pathophysiologische Mechanismen in der Krankheitsentwicklung dar. Daher ist die Möglichkeit der Visualisierung und quantitativen Erfassung der Mikrozirkulation essentiell für das Krankheitsverständnis.

Ischämie- und Reperfusionsepisoden sind untrennbar mit vielen viszeralchirurgischen Eingriffen, insbesondere transplantationschirurgischen Eingriffen assoziiert. Die daraus resultierende Ischämie/Reperfusion(I/R) – Schädigung im Bereich der kleinen Gefäße und Kapillaren führt zu einer Beeinträchtigung der nutritiven Perfusion, also zu einer Mikrozirkulationsstörung mit konsekutiver Beeinträchtigung der Organfunktion. Die in Folge einer I/R – Schädigung resultierende Mikrozirkulationsstörung wird durch verschiedene pathophysiologische Vorgänge wie z.B. Leukozytenaktivierung [7, 62, 70, 72, 73], Freisetzung von Sauerstoffradikalen [57, 69, 70] und Entzündungsmediatoren [57, 69, 70], Zellmembranschädigung mit folgender Zellschwellung [64-66] und Freisetzung vasoaktiver Substanzen [18, 75-77] induziert. Diese Prozesse werden durch eine Vielzahl von transplantationsspezifischen Parametern wie z.B. kalte und warme Ischämiezeiten [35, 49, 51, 139], Pfortaderklemmzeit [140-142], Konservierungslösung [143], Anlage eines porto-venösen Bypasses [142] und der Revaskularisierungstechnik [80, 144] beeinflusst.

Das Verständnis für die durch I/R – Schädigung verursachte Mikrozirkulation ist daher von großem Interesse für den Transplantationschirurgen, um die Schädigung des Transplantates vorherzusagen und idealerweise gezielt behandeln zu können, bzw. durch geeignete protektive Verfahren das Schädigungsausmaß zu begrenzen.

Schwerpunkt in der bisherigen hepatischen Mikrozirkulationsforschung ist die Intravitalmikroskopie (IVM) [6, 7, 100-106] am Rattenmodell. Sie ermöglicht die Bildgebung und quantitative Analyse der hepatischen Mikrozirkulation. Sie ist jedoch aufgrund der Verwendung direkt toxischer oder phototoxischer Fluoreszenzfarbstoffe und der aufwendigen intravitalmikroskopischen Apparatur auf das Tiermodell beschränkt. Weitere Methoden zur hepatischen Perfusionsmessung sind die Thermodiffusion [84], Laser Doppler Flowmetry [97, 98] und die Inert Gas Clearance Methode [99]. Dies sind jedoch nicht-bildgebende, indirekte Verfahren, die eine exakte Messung von perfusionsspezifischen Parametern einschränken. Die klinisch einsetzbaren bildgebenden Verfahren Kapillaroskopie [107, 108] und Laser-scanning

confocal imaging [109] lassen sich nur an leicht zugänglichen Stellen wie Haut und Konjunktiva, nicht jedoch im operativen Bereich an viszeralen Organen einsetzen.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung der klinischen Anwendung von Orthogonal Polarized Spectral Imaging [110] zur bildgebenden Darstellung und quantitativen Analyse der humanen hepatischen Mikrozirkulation [115] unter physiologischen Bedingungen und von deren pathophysiologischen Veränderungen unter I/R – Bedingung während der Lebertransplantation.

### **9.1 Bewertung des OPSI Untersuchungsverfahrens**

Erstmalig kann die humane hepatische Mikrozirkulation unter klinischen Bedingungen in-vivo bildgebend dargestellt und quantitativ analysiert werden. Bei dieser Methode wird intraoperativ die mikrozirkuläre Perfusion während der Messung direkt auf einem Monitor visualisiert und für spätere quantitative Messungen aufgezeichnet. Die Bildgebung erfolgt mittels Spektrophotometrie, bei der durch zurück illuminiertes Streulicht Erythrozyten perfundierte Gefäße im negativen Kontrast zum umgebenden Parenchym dargestellt werden [110]. Der Vergleich von OPSI mit der IVM zeigte eine statistisch signifikante Übereinstimmung der Bildqualität sowie der meisten mikrozirkulatorischen Parameter [110, 113]. Langer et al. [115] zeigten dies auch für das Rattenlebermodell unter physiologischen und I/R – Bedingungen.

Die hepatische mikrovaskuläre Architektur mit sinusoidalem Netzwerk, Arteriolen und Venolen wird exakt abgebildet. Durch die kontinuierliche Bildgebung kann der Verlauf von Erythrozytensäulen in den Gefäßen verfolgt werden und eine Erythrozytenaggregation oder völlige Stase des Blutflusses erkannt werden. Dies ermöglicht auch die Einschätzung der aktuellen Perfusion im Gewebe an verschiedenen Stellen der Leberoberfläche, so dass regionale Perfusionsdefekte abgegrenzt werden können. Damit ist OPSI den anderen nicht-bildgebenden Verfahren wie Inert Gas Clearance [99], Thermodiffusion [84] und Laser Doppler Flowmetrie [97, 98] weit überlegen, da diese nur indirekt Auskunft über die Perfusion geben. Aufgrund der physikalischen Eigenschaften der Messmethode ist jedoch die direkte Darstellung von Leukozyten, Endothel- oder Parenchymzellen nicht möglich. Leukozyten erscheinen als Aussparungen der Erythrozytensäule, jedoch ist die exakte Analyse der Leukozytenanzahl und Leukozyten-Endothel-Interaktionen nicht möglich. Dies ist derzeit nur mit der auf den experimentellen Bereich beschränkten Methode der IVM



möglich [6, 7, 100-106]. Mit einer Eindringtiefe von 500 µm bleibt das OPSI – Verfahren, wie auch alle anderen mikroskopischen Verfahren auf Bereiche kurz unterhalb der Organoberfläche beschränkt.

Dennoch ist zusammenfassend festzuhalten, dass sich OPSI zur Darstellung und quantitativen Messung der hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen und I/R-Bedingungen im klinisch-operativen Bereich eignet.

## **9.2 Die quantitative Messung mikrozirkulatorischer Parameter**

Die quantitative Messung der mikrozirkulatorischen Parameter sinusoidaler Durchmesser (D), funktionelle sinusoidale Dichte (FSD), intersinusoidaler Abstand (ISD) und Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV) erlaubt eine objektive Analyse der hepatischen Mikrozirkulation. Damit wird die Analyse etwaiger Mikrozirkulationsveränderungen in Folge von I/R sowie die Korrelation mit unmittelbar die Transplantation bestimmenden Einflussfaktoren (bsw. Ischämiezeit) und postoperativ messbarer Organschädigung (bsw. Transaminasenfreisetzung) ermöglicht. Die funktionelle kapillare Dichte (FKD) ist definiert als die Anzahl der perfundierten Kapillaren pro Untersuchungsfeld und ist ein etablierter Parameter zur Quantifizierung der nutritiven Gewebepfusion. Sie stellt indirekt eine Messung der Sauerstoffversorgung des Gewebes dar [145]. Ein Algorithmus zur Bestimmung der FKD in viszeralen Organen wurde von Schmidt-Schönbein et al. [135] am Pankreasgewebe erarbeitet. Die FKD kann absolut als die Länge von allen perfundierten Sinusoiden pro Untersuchungsfeld in cm/cm<sup>2</sup> angegeben werden. Alternativ kann die relative Rate perfundierter Sinusoide von der Gesamtzahl aller Sinusoide mit Hilfe einer horizontalen Rasterlinie der Länge 200 µm ermittelt werden [6, 146]. Da aber bei OPSI nicht-perfundierte Sinusoide nicht sicher dargestellt werden (nur Erythrozyten-gefüllte Sinusoide können dargestellt werden), wurde in dieser Studie die FSD nach der Schmidt-Schönbein Methode absolut in Gesamtlänge perfundierter Sinusoide pro Untersuchungsfeld ermittelt. Die fortlaufende Videoaufzeichnung ermöglicht die Differenzierung von tatsächlichem Erythrozytenfluss und Stase in den Sinusoiden. Ein funktionell perfundierter Sinusoid ist gemäß Definition ein Sinusoid, der innerhalb einer 30 Sekunden - Untersuchungsperiode mindestens einen Erythrozyten transportiert. Bei physiologischer Perfusion sind mehrere Erythrozyten zu dichten

Säulen zusammengepackt und grenzen sich durch deutliche Ränder vom Blutplasma ab.

Als weiterer Parameter wurde der intersinusoidale Abstand (ISD) gemessen. Dieser Parameter ist vor allem bei der Analyse von I/R - Schäden von Interesse. Bei postischämischer Schwellung der Parenchymzellen ist eine Zunahme des ISD zu erwarten. Auch durch eine erhöhte Anzahl nicht perfundierter Sinusoide ist mit einer Zunahme des ISD zu rechnen, da entsprechend nur die Abstände perfundierter Sinusoide (nicht perfundierte Sinusoide stellen sich bei OPSI auch nicht dar) gemessen werden.

Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV) beschreibt den Erythrozytenvorschub im Sinusoid pro Zeiteinheit. Sie wird durch eine Vielzahl von Parametern, wie zum Beispiel den Druckgradienten über den Sinusoiden, den sinusoidalen Durchmesser, die Blutviskosität und Gerinnungs- und Flusseigenschaften bestimmt. Die RBCV ist heterogen, möglicherweise hervorgerufen durch ateminduzierte Druckschwankungen sowohl in der Vena cava inferior als auch intrahepatisch [147]. Der sinusoidale Durchmesser ermittelt sich anhand der Messung der Breite der Erythrozytensäule.

Eine zylindrische Gefäßkonfiguration vorausgesetzt errechnet sich der volumetrische Blutfluss nach Gross und Aroesty [138] aus dem Durchmesser und der RBCV. Dieser Parameter reflektiert die aktuelle Blutflussmenge pro Zeiteinheit innerhalb der einzelnen Sinusoide [148].

### **9.3 Die physiologischen Parameter der humanen hepatischen Mikrozirkulation**

Erstmals konnten die physiologischen Normalwerte der humanen hepatischen Mikrozirkulation bei 11 Patienten, die sich einer Leberteilektomie zur Leberlebendspende unterzogen, ermittelt werden. Auch fortführende Messungen an insgesamt 32 Spender-Patienten in den Gruppen der Leberlebendtransplantation bestätigten die bei den initial 11 Patienten erhobenen Normalparameter. Die RBCV beträgt  $0,97 \pm 0,43$  mm/s und ist damit ungefähr um den Faktor 2 höher als unter physiologischen Bedingungen im Rattenmodell [102]. Wie auch in Maus- und Rattenlebern [102, 103] liegt eine ausgesprochene Heterogenität der RBCV in der humanen Leber mit Werten zwischen 0,17 – 2,81 mm/s vor, so dass die Messwerte nicht normal verteilt sind. Möglicherweise nehmen ateminduzierte Druckschwankungen in der Vena cava inferior und in der Leber Einfluss auf die RBCV [147]. Der sinusoidale

Durchmesser mit  $8,8 \pm 0,9 \mu\text{m}$  ist vergleichbar mit den im Rattenmodell gemessenen Werten [149]. Hieraus resultiert gegenüber der Rattenleber ein um etwa 20 % höherer volumetrischer Blutfluss mit  $58,2 \pm 9,6 \text{ pl/s}$  beim Menschen. Dem gegenüber ist die FSD beim Menschen mit  $391 \pm 30 \text{ cm}^{-1}$  um ca. 10 % kleiner als bei der Rattenleber [6, 150]. Die ISD betrug  $22,6 \pm 2,5 \mu\text{m}$  und ist bei I/R – Untersuchungen ein wertvoller Indikator für Parenchymschwellung und reduzierte Anzahl perfundierter Sinusoide. Alle beschriebenen Parameter mit Ausnahme der RBCV sind normal verteilt.

#### **9.4 Die initiale hepatische Mikrozirkulation nach Reperfusion bei der humanen orthotopen full size Lebertransplantation**

Erstmals konnte nach I/R die hepatische Mikrozirkulation bei der orthotopen full size Lebertransplantation (OLT<sub>X</sub>) am Menschen direkt visualisiert und quantitativ ausgewertet werden. Die postischämisch veränderte mikrovaskuläre Perfusion nach simultaner Reperfusion im OLT<sub>X</sub> Transplantationsprozess konnte mittels OPSI exakt analysiert werden.

Insbesondere fiel eine postischämische, reaktive Hyperämie, die sich durch eine Zunahme des VBF in den Einzelsinusoiden um 22 % 5 Minuten nach Reperfusion und 26 % 30 Minuten nach Reperfusion zeigt, auf. Diese Zunahme resultiert vor allem aus dem erweiterten Durchmesser der perfundierten Sinusoide. Die Steigerung des VBF scheint ein bedeutender Faktor zur Sicherstellung einer adäquaten Gewebepfusion zu sein, die für einen zügigen Abtransport von toxischen, postischämischen Metaboliten und die Zuführung von Sauerstoff von entscheidender Bedeutung ist. Der gesteigerte VBF in den funktionell perfundierten Einzelsinusoiden kompensiert auch teilweise die verminderte FSD, die in den ersten 30 Minuten nach Reperfusion eine Perfusion von nur ca. 73 % der anatomisch vorhanden Sinusoide im Vergleich zur physiologischen Kontrollgruppe zeigt. Die Verminderung der FSD ist die Folge von initial nicht perfundierten Sinusoiden, in der Literatur beschrieben als „no reflow“, und bereits perfundierten Sinusoiden, die sich jedoch durch verschiedene Mechanismen wie z.B. Leukozytenadhäsion wieder verschließen, auch beschrieben als „reflow paradox“. Dies wurde erstmals durch Menger et al. [62, 63] für das Skelettmuskelmodell und durch Muller et al. [151] für die Leber beschrieben.

Der sinusoidale Durchmesser (D) und damit auch der VBF verhalten sich different bei kalter und warmer Ischämie. Warme I/R führt über hypoxisch induzierte

Endothelzellenschwellung zu einer Abnahme des sinusoidalen Durchmessers und “no reflow“ in den Sinusoiden, hervorgerufen durch Leukostase und reduzierten Perfusionsdruck [152]. Im Tiermodell konnte bei warmen Ischämiezeiten von 20 – 90 Minuten eine Abnahme des D und der FSD von bis zu 25 % und eine Abnahme der RBCV von bis zu 40 % nachgewiesen werden [153-155]. Dem gegenüber führte eine kalte Ischämie bei 4°C über 90 Minuten [154] bzw. Lagerung in kaltem Perfusat über 60 Minuten mit anschließender Lebertransplantation und Reperfusion [143] nicht zu einer massiven Beeinträchtigung der mikrozirkulären Perfusion. Längere Ischämiezeiten über 6 Stunden führten jedoch auch bei der kalten Ischämie zu moderaten Mikrozirkulationsstörungen [156] und eine sehr lange Ischämiezeit von 24 Stunden zu einer massiven Störung der hepatischen Mikrozirkulation nach Reperfusion [157]. In unserer Studie war die FSD um 30% im Vergleich zur physiologischen Kontrollgruppe bei einer mittleren kalten Konservierungszeit in UW – Lösung von  $9,2 \pm 3,4$  Stunden reduziert. Zu vergleichbaren Ergebnissen führten die tierexperimentellen Untersuchungen an Maus- und Rattenlebern [152-154]. Der VBF der einzelnen perfundierten Sinusoide war im Sinne einer kompensatorischen Hyperämie vor allem aufgrund einer Dilatation der Sinusoide erhöht. Da der Durchmesser quadratisch in die Berechnung des VBF (Produkt aus RBCV und  $D^2$ ) nach Gross et al. [158] eingeht, führte eine geringe Dilatation der Sinusoide bereits zu einem deutlichen Anstieg des VBF, wie sich in unserer Untersuchung widerspiegelte. Interessanterweise basierte die weitere Zunahme der VBF um 10% innerhalb der ersten 30 Minuten nach Reperfusion auf einer Zunahme der RBCV bei konstantem Durchmesser. Der VBF wurde bisher nur zur quantitativen Beschreibung der hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen eingesetzt [148]. Wir sind jedoch der Auffassung, dass der VBF auch eine bedeutende Größe in der Analyse der hepatischen Mikrozirkulation nach I/R darstellt und aussagekräftig die postischämische Hyperämie beschreibt. Auch nicht-bildgebende Verfahren wie die Laser Doppler flowmetry [98] und die FITC-Dextran-Methode [159] bestätigten die Hyperämie in der Leber nach kalter Ischämie mit anschließender Reperfusion. Die postischämische Dilatation der Sinusoide unterliegt komplexen Regelmechanismen. Hervorzuheben ist die Stickstoffmonoxid (NO) - Abgabe aus Endothelzellen, reguliert über Endothelin-1 und die Verschiebung des Endothelin-A- und Endothelin-B - Rezeptorverhältnisses zu Gunsten des ET-B-Rezeptors [20, 160]. Für die Zunahme der RBCV innerhalb der ersten 30 Minuten scheint auch der gesteigerte initiale Perfusionsdruck durch die simultane Reperfusion von Pfortader und Arteria

hepatica von entscheidender Bedeutung zu sein. Tierexperimentelle Studien zeigen die Signifikanz von initialer zeitgleicher Reperfusion mit portovenösem und arteriellem Blut für einer verbesserte initiale Reperfusion nach kalter Ischämie [161, 162].

### **9.5 Zusammenhänge zwischen initialen Reperusionsparametern, transplantationsspezifischen Parametern und postoperativen Transaminasen in Hinblick auf die Transplantatintegrität und -funktion bei der OLTX**

Die postoperativen Serumlevel der Aspartat-Amino-Transferase (ASAT) sind ein etablierter Parameter zur Einschätzung der hepatischen Parenchymzellschädigung nach Lebertransplantation. Rosen et al. [163] zeigten zwar, dass initiale ASAT – Werte alleine nicht prädikativ für das Auftreten von initialem Transplantatversagen sind, jedoch ASAT – Werte über 2000 U/l [164] und über 5000 U/l [163] mit einer höheren Mortalität einhergehen. In dieser Arbeit wurde die initiale mikrovaskuläre Dysfunktion in Bezug zu den postoperativen ASAT- und Bilirubinspitzenwerten gesetzt und deren postoperativer Verlauf über 5 Tage im Hinblick auf Transplantaterholung und Funktionsaufnahme untersucht. Es wurden zwei Patientengruppen mit ASAT – Maximalwerten von < 1000 U/l und > 1000 U/l, basierend auf Erfahrungen in unserer Klinik [165], zur Analyse gebildet. Der Einfluss der kalten Ischämiezeit auf die Schwere der Ischämie- und Reperfusionsschäden ist unumstritten [166], jedoch konnte keine Korrelation zwischen der kalten Ischämiezeit und postoperativen ASAT – Maximalwerten gezeigt werden [167]. Diese Arbeit bestätigt dies im Hinblick auf die ASAT – Maximalwerte. In Hinblick auf den ASAT – Verlauf zwischen drittem und fünftem postoperativen Tag besteht jedoch eine signifikante Korrelation zur kalten Ischämiezeit in beiden Gruppen (< 1000 U/l und > 1000 U/l). Marzi et al. [105] zeigten, dass das Ausmaß der mikrovaskulären Dysfunktion entscheidend von der Dauer der kalten Ischämiezeit abhängt. Auch unsere Untersuchungen unterstreichen diese Beobachtungen. Es zeigte sich eine inverse Korrelation zwischen dem VBF 30 Minuten nach Reperfusion und der Dauer der kalten Ischämiezeit. Damit nimmt die Dauer der kalten Ischämiezeit direkt Einfluss auf die initiale postischämische Perfusion in den einzelnen hepatischen Sinusoiden. Vollmar et al. [152] zeigten eine Korrelation der postoperativen ASAT – Werte sowie der Galleproduktion mit der Anzahl von nicht-perfundierten Sinusoiden und dem Erythrozytenfluss, was auf eine Abhängigkeit der Hepatozytenintegrität und exokrinen

Funktion von der Qualität der sinusoidalen Perfusion und Oxigenierung schließen lässt. Klar et al. [84, 168-170] demonstrierten eine Korrelation zwischen der initialen hepatischen Mikrozirkulation und klinischen Parametern mittels Thermodiffusion. Dabei wurden zwei Gruppen mit initial guter Graft-Funktion und Graft-Nichtfunktion gebildet mit einem Perfusionsschwellenwert von 53 ml/100g/min. ASAT- und ALAT-Maximalwerte korrelierten invers mit einer hepatischen Perfusion unter 53 ml/100g/min. Die Frage nach der Ursache des Perfusionsversagens im Hinblick auf reduzierte funktionelle sinusoidale Dichte, sinusoidale Konstriktion oder unzureichenden sinusoidalen Perfusionsdruck kann mit der Methode der Thermodiffusion nicht beantwortet werden. In dieser Arbeit konnte unter Anwendung von OPSI die postischämische, hepatische Mikrozirkulation direkt visualisiert und untersucht werden. Es zeigte sich eine postischämische Hyperämie, reflektiert durch eine Zunahme des volumetrischen Blutflusses. Diese Zunahme resultiert aus einer initialen Dilatation der hepatischen Sinusoide mit einer Zunahme der Erythrozytenflussgeschwindigkeit im Verlauf der postischämischen Perfusion.

In Prospektion zu den klinischen Parametern zeigt die vorliegende Studie die reaktive Hyperämie als möglichen Mechanismus zur Erholung und Funktionsaufnahme des Lebertransplantats nach I/R-Schädigung im Rahmen der Transplantation. Der volumetrische Blutfluss erweist sich als ein entscheidender Parameter im Hinblick auf die postischämische Leberschädigung im Transplantationsprozess. Weitere Forschungsarbeit zur Verbesserung des VBF durch Beeinflussung des sinusoidalen Durchmessers und der Erythrozytenflussgeschwindigkeit ist notwendig, um durch eine verbesserte initiale Mikroperfusion den Transplantationserfolg zu steigern. Kawachi et al. [171] konnten eine Verbesserung des initialen hepatischen Blutflusses durch portale Infusion von Prostaglandin E1 nachweisen. Ein ähnlicher guter Effekt wurde durch Endothelin-Rezeptorblockade durch Uhlmann et al. [172] nachgewiesen. Die intravenöse Applikation von 1 mg/kg KG des ETRA Bosentan verhinderte die postischämische sinusoidale Vasokonstriktion und die Verabreichung von 10 mg/kg KG führte sogar zu einer sinusoidalen Dilatation im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die postoperativen ASAT – Werte waren sechs Stunden nach Reperfusion in der Gruppe mit 1 mg/kg Bosentan im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant reduziert und der Sauerstoffgehalt im Gewebe war signifikant erhöht. Klinisch ist Bosentan bereits in vielen Ländern zur Therapie der pulmonalen arteriellen Hypertonie zugelassen [173-180]. Erfahrungen nach Lebertransplantation liegen bisher nicht vor.

Des Weiteren muss der NO – Donor L-Arginin als potentieller sinusoidaler Vasodilatator erwähnt werden, der ebenfalls experimentell zu einer erheblichen Reduzierung der I/R Schädigung beiträgt [181].

### **9.6 Die humane hepatische Leberlebendtransplantation – Vergleich von simultaner versus sequentieller Reperfusion im Hinblick auf die initiale post-I/R Mikrozirkulation, Transplantatintegrität und Transplantatfunktion**

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig die hepatische Mikrozirkulation während der humanen Leberlebendtransplantation direkt visualisiert und quantitativ ausgewertet. Ziel war es, den Einfluss der alleinigen initialen portalen Reperfusion auf die hepatische Mikrozirkulation und die Transplantatintegrität zu untersuchen und eventuelle Vorteile bzw. Nachteile gegenüber der simultanen Reperfusion zu analysieren. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die alleinige portale Reperfusion nicht zu einer ausreichenden Perfusion führt, wodurch das Transplantat initial geschädigt wird. Dies beweist die negative Korrelation der mikrohämodynamischen Parameter mit den postoperativen Transaminasewerten. Die folgende Rearterialisierung führte zu einer zügigen Wiederherstellung einer adäquaten Perfusion mit sich einstellender postischämischer Hyperämie. Diese resultierte aus einer Erhöhung des volumetrischen Blutflusses der einzelnen Sinusoide. Die funktionelle sinusoidale Dichte konnte jedoch nicht innerhalb der ersten 30 Minuten nach Rearterialisierung im Vergleich zu den physiologischen Normalwerten wiederhergestellt werden. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass eine signifikante Korrelation zwischen dem Zeitintervall zwischen portalvenöser und leberarterieller Reperfusion und den gemessenen mikrozirkulatorischen Parametern besteht. Im Gegensatz dazu hatten die Zeitdauer der anhepatischen Phase sowie die kalte Ischämiezeit keinen wesentlichen Einfluss auf die hepatische Mikrozirkulation.

Als Standardtechnik der klinischen Lebertransplantation erachten die meisten Transplantationszentren die portalvenöse Reperfusion nach Beendigung dieser Anastomose. Als wesentliche Vorteile müssen die Verkürzung der anhepatischen Phase sowie die verkürzte Transplantatwiedererwärmungszeit im Situs während der Anastomosenzeit angesehen werden. Die Rearterialisierung erfolgt in dem Fall der initial portalvenösen Reperfusion erst sequentiell. Ein Nachteil der initialen portalen Reperfusion stellt die schnelle Aufwärmung des nach Konservierung stark sauerstoff-deprivierten Organes mit sauerstoffarmem portalvenösen Blut dar. Dies führt

möglicherweise zu einer warmen Ischämie des Leberparenchyms während der alleinigen portalen Perfusion. Als zweiter Nachteil ist der niedrige Perfusionsdruck der ausschließlichen Pfortaderperfusion zu nennen, der vermutlich nicht ausreichend ist, um die durch Schwellung bereits stark verengten Sinusoide wiederzueröffnen.

Das resultierende porto-arterielle Reperusionszeitintervall betrug in der vorliegenden Studie  $27,7 \pm 13,3$  Minuten. In dieser Zeitspanne liegt eine initial insuffiziente Perfusion des Transplantates vor, die zu einer warmen Ischämie mit daraus resultierender Transplantatschädigung führt. Dies wird durch die negative Korrelation der Perfusionswerte mit den postoperativen Transaminasen in der vorliegenden Studie bestätigt.

Die direkte Visualisierung mittels OPSI zeigte häufig ein oszillierendes Perfusionsbild in Abhängigkeit von der Patientenatmung. Hieraus lässt sich schließen, dass der notwendige Perfusionsdruck für eine kontinuierliche, gerichtete Perfusion bei alleiniger portaler Perfusion nach Transplantation nicht gegeben ist. Für einen gerichteten Blutfluss durch die Leber sind verschiedene Druckgradienten Voraussetzung, die sich aus der Mikroarchitektur des hepatischen Gefäßsystems erklären lassen. Die terminalen hepatischen Arteriolen (THA) versorgen vier verschiedene Systeme. Sie münden direkt in die hepatischen Sinusoide, sie versorgen die Vasa vasorum der Gefäße sowie den kapillären Plexus der Gallengänge und sie anastomosieren direkt mit den portalen terminalen Venolen [9, 182, 183]. Die portalen terminalen Venolen (TPV) münden direkt in die Sinusoide und an dieser Stelle ist der Druckgradient im portalen System am größten, jedoch um ein vielfaches kleiner als der Druckgradient zwischen den THA und den Sinusoiden [9, 12]. Die THA und die TPV anastomosieren proximal vor den Sinusoiden. Des weiteren münden die THA direkt im Bereich der periportalen Zone in die Sinusoide, wodurch ein sehr hoher Druckgradient mit einem daraus resultierenden Fluss entsteht [11, 148, 183-185]. Sherman et al. [159] zeigten, dass die intrasinusoidale Flussgeschwindigkeit von mit Fluorescein Isothiocyanate markierten Erythrozyten mit Ursprung aus den THA größer ist, als die Flussgeschwindigkeit von unmarkierten Erythrozyten mit Ursprung aus den TPV. Dies spricht für einen größeren Druckgradienten zwischen den THA und den Sinusoiden versus den TPH und den Sinusoiden, der zu einer kürzeren Passierdauer der THA – Erythrozyten führt. Des weiteren zeigte die Gruppe um Sherman [159], dass Sinusoide mit einem größeren Anteil an arteriellem Blut einen größeren sinusoidalen Durchmesser besitzen und somit der Flusswiderstand geringer ist, was zu einer größeren



Erythrozytenflussgeschwindigkeit innerhalb dieser Sinusoide führt. Dies wäre auch eine mögliche Erklärung für die breitere Streuung der Erythrozytenflussgeschwindigkeit mit  $940 \pm 170 \mu\text{m/s}$ . Die vorliegende Studie zeigt ähnliche Ergebnisse wie die der Gruppe um Sherman [159]. Bei alleiniger portaler Perfusion fällt die Erythrozytenflussgeschwindigkeit um  $48 \pm 21 \%$  auf  $480 \pm 160 \mu\text{m/s}$  im Vergleich zum Basiswert ab, höchstwahrscheinlich aufgrund des reduzierten Druckgradienten bei alleiniger Pfortaderperfusion. Die anschließende Rearterialisierung führt schon innerhalb der ersten 5 Minuten zu einem schnellen Anstieg der Erythrozytenflussgeschwindigkeit auf  $860 \pm 110 \mu\text{m/s}$ . 30 Minuten nach Rearterialisierung stieg die Erythrozytenflussgeschwindigkeit auf  $1130 \pm 23 \mu\text{m/s}$  an, was eine Erhöhung von  $25 \pm 22 \%$  über den Basiswert darstellt. Diese Erhöhung führt in Kombination mit der Zunahme des sinusoidalen Durchmessers von  $8,7 \pm 0,5 \mu\text{m}$  auf  $10,0 \pm 1,2 \mu\text{m}$  5 Minuten bzw.  $9,7 \pm 0,9 \mu\text{m}$  30 Minuten nach Rearterialisierung zu der Zunahme des volumetrischen Blutflusses, wie wir es auch bei der Reperfusion der orthotrop transplantierten Kadaverlebern beobachtet haben. Es zeigt sich, dass der gesteigerte Perfusionsdruck nach Arterialisierung notwendig ist, um eine ausreichende Perfusion herzustellen. Die durch I/R – Schäden induzierte interstitielle und parenchymale Gewebeswellung führt zu einer Beeinträchtigung der Mikroperfusion, wodurch umso mehr ein ausreichender Perfusionsdruck notwendig ist, um eine adäquate post - I/R Mikrozirkulation zu garantieren. Post et al. [161] und Chaland et al. [162] kamen zu vergleichbaren Ergebnissen bei Untersuchung der hepatischen Perfusion mittels Intravitalmikroskopie, Laser Doppler Flowmetrie und radioaktiven Perfusionspartikeln im Rattenlebertransplantationsmodell.

Die nach Arterialisierung auftretende Hyperämie im Sinne eines gesteigerten volumetrischen Blutflusses ist eine typische Antwort auf kurzzeitige Ischämieperioden. Wir konnten zeigen, dass das Ausmaß der Hyperämie signifikant vom Zeitintervall zwischen portaler Reperfusion und arterieller Reperfusion abhängig ist. Je länger dieses Zeitintervall ist, desto größer ist die postischämische Hyperämie. Dies bekräftigt unsere Ergebnisse, dass die alleinige initiale portale Perfusion nicht zu einer ausreichenden Mikroperfusion führt. Bei der humanen Lebertransplantation führt eine kalte Ischämiezeit von weniger als drei Stunden in einer UW- oder HTK-Konservierungslösung nicht zu einer bedeutenden Mikroperfusionsstörung oder Transplantatschädigung [186]. Offensichtlich scheint jedoch die alleinige initiale portale Reperfusion zu einer zügigen Erwärmung des Transplantats zu führen. Dies wiederum

verstärkt durch den wiedereinsetzenden Stoffwechsel die Hypoxie im Gewebe und führt zu einer gesteigerten postischämischen Mikrozirkulationsstörung und Transplantatschädigung. Unsere klinisch gewonnenen Messdaten werden durch tierexperimentelle Daten bestätigt. Auch bei der Lebertransplantation im Rattenmodell führt eine initiale portale Reperfusion mit später folgender Arterialisierung im Vergleich zur simultanen Reperfusion deutlich zu einer verstärkten Mikrozirkulationsstörung in der initialen Perfusionsphase [161, 187]. Post et al. [80] zeigten, dass bereits eine alleinige portale Perfusion von 8 Minuten vor der Arterialisierung ausreichend ist, um eine länger andauernde Verschlechterung der Transplantatmikrozirkulation hervorzurufen. Insbesondere wird Hypoxie in dieser Studie als maßgeblicher pathologischer Faktor genannt. Auch Reck et al. [188] zeigten im Rattenlebertransplantationsmodell, dass Arterialisierung entscheidend den Sauerstoffpartialdruck im Gewebe steigert und dass bei der simultanen Reperfusion die intrazellulären ATP – Werte besser konstant gehalten werden als bei der sequentiellen Reperfusion. Campra et al. [189] zeigten, dass zwar 75 % des hepatischen Blutflusses über die Pfortader erfolgt, der hepatische Sauerstoffbedarf jedoch zu 50 % aus dem arteriell zugeführten Blut gedeckt wird. Die postischämische Hyperämie ist bedeutend für eine ausreichende Deckung des erhöhten Sauerstoffbedarfs sowie für den Abtransport toxischer Metabolite. Dies scheint zu einer besseren Transplantatintegrität mit reduzierten I/R – Schäden zu führen, welches durch die negative Korrelation zwischen den Reperusionsparametern und den postoperativen Transaminasen belegt wird.

Die funktionale sinusoidale Dichte (die Anzahl der perfundierten Sinusoide an der Gesamtzahl anatomisch vorhandener Sinusoide) war im Vergleich zu den Basiswerten reduziert. Arterialisierung konnte die sinusoidale Perfusion signifikant steigern, jedoch wurden innerhalb der ersten 30 Minuten die physiologischen Ausgangswerte nicht erreicht. Die alleinige portale Perfusion hingegen zeigt eine massive Reduzierung aller gemessenen mikrozirkulatorischen Parameter. Die Ursache des Perfusionsversagens im Hinblick auf direkte sinusoidale Konstriktion, insuffizienten Perfusionsdruck oder reduziertes Blutvolumen mit resultierendem Kollaps der Sinusoide bei alleiniger portaler Perfusion kann mit dieser Studie nicht sicher beantwortet werden. In Retrospektion zur Diskussion der angeführten Arbeiten und der Beobachtung der raschen Verbesserung der initialen Perfusion nach Arterialisierung erscheint ein insuffizienter Perfusionsdruck als Ursache für das portale Perfusionsversagen als sehr wahrscheinlich. Ein ausreichender Perfusionsdruck scheint auch notwendig zu sein, um Zellbestandteile,

Mikrothromben und andere Blutbestandteile aus den Sinusoiden zu spülen und somit eine adäquate Perfusion wiederherzustellen.

Um zur Organkonservierung eine ausreichende sinusoidale Reinigung von Blutbestandteilen zu erreichen, ist ein arterieller Perfusionsdruck von mindestens 130 mmHg notwendig. Wird mit geringerem Druck perfundiert, bleiben Blutbestandteile in den Sinusoiden zurück, wodurch die spätere Reperfusion beeinträchtigt wird, mit konsekutivem Anstieg der postoperativen Transaminasen [190].

Arvidson et al. [96] beschreiben die Möglichkeit eines vermehrten arteriellen Anteils an dem subkapsulären hepatischen Blutfluss, wodurch theoretisch die beschriebenen Ergebnisse in Hinblick auf den arteriellen Einfluss an der hepatischen Mikrozirkulation alteriert sein könnten. Jedoch zeigt die inverse Korrelation zwischen sinusoidalem volumetrischen Blutfluss während der portalen Reperfusion und der postoperativen Transaminasenfreisetzung die Intoleranz des Lebertransplantats gegenüber unzureichender Perfusion. Die Arterialisierung führt hingegen zügig zu einer Wiederherstellung einer ausreichenden nutritiven sinusoidalen Perfusion und fördert somit die initiale Transplantatfunktion.

Abschließend ist festzustellen, dass die initiale simultane Reperfusion der sequentiellen Reperfusion überlegen ist. Nicht die Zeitdauer der anhepatischen Phase und die kalte Ischämiezeit, sondern die initial suffiziente nutritive arterielle Perfusion ist entscheidend für eine adäquate Mikrozirkulation mit Minimierung der I/R – Schäden während der Lebertransplantation. Diese fördert die Transplantatintegrität und die initiale Transplantatfunktion.

### **9.7 Therapeutische Einflussnahme auf die durch Ischämie und Reperfusion alterierte Mikrozirkulation während der Lebertransplantation**

Die genannten pathophysiologischen Mechanismen bieten therapeutische Einflussmöglichkeiten auf die I/R - Schädigung. Es gibt pharmakologische, transplantations- und reperfusionsspezifische Ansatzpunkte, um die initiale Mikrozirkulation nach Lebertransplantationen zu verbessern. Die Reduzierung der Leukozytenaktivierung stellt einen Hauptansatzpunkt dar. Wird die Zahl freier Sauerstoffradikale durch Blockade des Xanthine-Oxidase-Systems mit Allopurinol oder durch Neutralisierung der Radikale mit Superoxid-Dismutase reduziert, zeigt sich eine signifikante Reduzierung der Leukozytenadhäsion sowie eine verbesserte funktionale

sinusoidale Dichte [191]. Die Gabe von monoklonalen Antikörpern gegen die Adhäsionsmoleküle reduziert ebenfalls signifikant die Leukozytenadhäsion und damit I/R-Schäden [192-195]. Anthuber et al. [81] zeigten im Rattentransplantationsmodell den protektiven Effekt des ACE-Inhibitors Enapril. Die intravenöse Applikation von Enapril 5 Minuten vor der Reperfusion führte gegenüber der Kontrollgruppe zu einer signifikant verbesserten sinusoidalen Perfusionsrate und zu verminderter sinusoidaler und postsinusoidaler Leukozytenadhäsion. Eine initial bessere Leberfunktion im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte sich durch eine höhere Galleproduktion und verbesserte PT-, Fibrinogen- und Faktor V- Parameter. Signifikant verminderte ALT - Werte in der Enapril-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe weisen auf eine bessere Hepatozytenintegrität hin. Die intraportale Applikation von Prostaglandin E1 in einem 60 Minuten warme Ischämie Rattenmodell (ohne Transplantation) führte zu einer verminderten Leukozytenadhäsion in Sinusoiden und Venolen [196]. Uhlmann et al. [76] untersuchten die Wirkung von Bosentan, einem nicht-selektiven ET-Rezeptorenblocker, in einem 30 Minuten warme Ischämie Rattenmodell (ohne Transplantation). Die intravenöse Applikation von Bosentan 2 Minuten vor Ischämiebeginn führte zu einer verminderten Leukozytenadhäsion bei einer signifikant erhöhten sinusoidalen Perfusionsrate im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe. Während der sinusoidale Durchmesser in der Kontrollgruppe nach Reperfusion auf 77 % reduziert war, blieb er in der Bosentan-Gruppe konstant. Der mittlere hepatische  $pO_2$  kehrte nach Reperfusion in der Bosentan-Gruppe schneller zu physiologischen Werten zurück. Der Transaminasenanstieg (AST, ALT, LDH) war in der Bosentan-Gruppe signifikant reduziert. Die Arbeitsgruppe um Spiegel et al. [197] zeigte analoge positive Ergebnisse von Bosentan im ischämischen Rattenlebermodell.

Marzi et al. [143] untersuchten den Einfluss der verschiedenen Konservierungslösungen Euro-Collins (EC), University of Wisconsin (UW) und Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate (HTK) im Rattenlebertransplantationsmodell. Nach einstündiger Lagerung der explantierten Leber in der Konservierungslösung wurde sie re-implantiert und nach einer weiteren Stunde die Mikrozirkulation mittels Intravitalmikroskopie analysiert. Die Anzahl perfundierter Sinusoide war in der EC-Gruppe auf 82,9 %, in der UW-Gruppe auf 93,2 % und in der HTK-Gruppe auf 91,0 % reduziert. Der sinusoidale Durchmesser war in der EC-Gruppe auf  $7,3 \pm 0,2 \mu m$  reduziert, in der UW-Gruppe betrug er  $9,5 \pm 0,2 \mu m$  ( $p < 0,05$ ) und in der HTK-Gruppe  $10,2 \pm 0,08 \mu m$  ( $p < 0,05$ ). Permanente Leukozytenadhäsion trat vermehrt in der EC-Gruppe auf. Diese Studie zeigt, dass die

Zusammensetzung der Konservierungslösung entscheidend die I/R-Schädigungen beeinflusst und sich Veränderungen der initialen Mikrozirkulation nach Transplantation nachweisen lassen.

McKoeun et al. [51] zeigten den Einfluss von kalter und warmer Ischämiezeit auf die hepatische Mikrozirkulation im Rattentransplantationsmodell. Die kalte Ischämiephase bewirkt insbesondere eine Schädigung der Endothelzellen, während die warme Ischämiephase eher die Hepatozyten schädigt. Transplantate mit kalter Ischämiezeit von 4 Stunden und warmer Ischämiezeit von 1 Stunde waren vital, während alle Transplantate mit einer kalten Ischämiezeit von 8 Stunden und warmer Ischämiezeit von 2 Stunden nicht mehr funktionsfähig waren. In dieser Gruppe war auf mikrozirkulatorischer Ebene eine vermehrte Thrombozytenaggregation und vaskuläre Resistenz zu beobachten. He et al. [49] zeigten eine sichere warme Ischämiezeit bis 30 Minuten im Rattentransplantationsmodell. Eine warme Ischämiezeit von 45 Minuten hingegen führte zu einer deutlichen Reduzierung des Langzeitüberlebens und bei 60 Minuten traten signifikante strukturelle und funktionelle Störungen auf. Bei der humanen Lebertransplantation beträgt die marginale Donorakzeptanz für die kalte Ischämiezeit < 14 h [139]. Im Rattentransplantationsmodell wird auch eine kalte Ischämiezeit von 24 Stunden toleriert, mit einer Überlebensrate 4/5 nach 30 Tagen [198]. Die kalte Ischämiezeit führt jedoch zu einer signifikanten Schädigung mit Schwellung der Sinusendothelzellen, wodurch die initiale Mikrozirkulation im Sinne von „no-reflow“ beeinträchtigt wird [35]. Urata et al. [140] zeigten, dass die Pfortaderklemmzeit mit der Überlebenszeit korreliert. Jedoch war nicht eine direkte Beeinflussung der hepatischen Mikrozirkulation nachzuweisen. Verlängerte portale Klemmzeiten waren insbesondere mit einer Endotoxinwirkung infolge prolongierter intestinaler warmer Ischämie assoziiert. Diese Endotoxine aktivieren Kupffer-Sternzellen, die wiederum durch vermehrte Freisetzung von TNF zu einem endotoxin-ähnlichen Schocksyndrom führen [141]. Marzi et al. [142] zeigten jedoch, dass bei Anlage eines porto-jugularen Shunts 89 % der Sinusoide reperfundiert waren, versus 83 % in der Gruppe ohne Shunt. Die Zahl der temporären und permanenten Leukozytenadhäsionen war in der Shunt-Gruppe ebenfalls signifikant vermindert.

Die vorliegende Arbeit zeigt einer verbesserte initiale Mikroperfusion und Transplantatfunktion bei simultaner Reperfusion im Vergleich zur sequenziellen Reperfusion. Post et al. [80] verglichen die sequenzielle, um 8 Minuten verzögerte, Rearterialisierung mit der simultanen Reperfusion im Rattentransplantationsmodell.

Intravitalmikroskopische Untersuchungen 30 bis 90 Minuten nach Reperfusion zeigten eine Abnahme der nicht perfundierten Acini und Sinusoide um 71 % ( $p=0,008$ ) und 78 % ( $p<0,001$ ) in der Gruppe der simultanen Reperfusion im Vergleich zur Gruppe der sequenziellen Reperfusion. Leukozytenadhäsion in den Sinusoiden und postsinusoidalen Venolen war in der Gruppe der simultanen Reperfusion um 17 % ( $p=0,008$ ) und 64 % ( $p<0,001$ ) reduziert. Die Kupffer-Sternzellaktivierung war bei simultaner Reperfusion signifikant vermindert. Eine verbesserte initiale hepatische exokrine Funktion mit einer Gallenflüssigkeitsproduktion von  $2,24 \pm 0,7$  vs.  $0,95 \pm 0,4$  ml/100g Leberparenchym ( $p<0,05$ ) 90 Minuten nach Reperfusion wurde in der Gruppe der simultanen Reperfusion gezeigt. Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen van As et al. [144] in einem Schweinelebertransplantationsmodell. Sie untersuchten vier Arterialisierungszeitpunkte von 60 Minuten post-portaler Reperfusion bis 20 Minuten vor portaler Reperfusion. In der Gruppe 4 (20 Minuten prä-portale Reperfusion) stagnierte der Anstieg der Aspartataminotransferasewerte (AST) eine Stunde nach Transplantation, hingegen stiegen in der Gruppe 1 (60 Minuten nach Reperfusion) die AST – Werte kontinuierlich über 4 Stunden an. Die Hyaluronsäurewerte stiegen in allen Gruppen bis eine Stunde nach Transplantation an mit Ausnahme der Gruppe 4, in der bereits 20 Minuten nach Transplantation wieder eine Abnahme der Hyaluronsäurewerte zu verzeichnen war. Die Vitamin A – Werte nahmen in allen vier Gruppen nach Reperfusion ab, jedoch wesentlich langsamer in den Gruppen 1 und 2. Zusammenfassend war eine frühe Rearterialisierung mit verringerten Reperfusionsschäden, verbesserter Endothelzellfunktion und reduzierter hepatozellulärer Schädigung assoziiert.

Die ischämische Präkonditionierung (IP), bei der das Organ für eine lange Ischämieepisode mittels mehrerer kurzer Ischämie-Reperfusionsepisoden konditioniert wird, kann die initiale hepatische Mikrozirkulation ebenfalls verbessern. Postischämische Leukozytenrollen und Leukozytenadhäsion können durch IP signifikant vermindert werden [199]. Glanemann et al. [83] untersuchten den Einfluss von 5 Minuten IP mit 30 minütiger Reperfusion und anschließender 45 minütiger Ischämie am Rattenmodell mittels Intravitalmikroskopie. IP reduzierte signifikant Kupffer-Sternzellaktivierung und die Zahl initial nicht perfundierter Sinusoide. Der mitochondriale Redoxstatus blieb im Gegensatz zur Gruppe ohne IP ausgeglichen, so dass eine ausgewogene Oxygenierung vorlag. IP konnte eine Verminderung der Galleproduktion und einen Anstieg der Glutamatdehydrogenasewerte (GLDH) im

Vergleich zur nicht-IP Gruppe verhindern. Auch hypertherme IP konnte im Tiermodell die I/R – Schädigung reduzieren und die initiale hepatische Mikrozirkulation positiv beeinflussen [82].

Die Untersuchung der Mikrozirkulation unter Anwendung der OPSI – Methode bietet eine Grundlage für weitere Untersuchungen von transplantationsspezifischen Parametern und pharmakologischen Ansatzpunkten.

## 10 Zusammenfassung

Orthogonal Polarization Spectral Imaging (OPSI) erlaubt die Visualisierung und quantitative Analyse der hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen und Ischämie/Reperfusion-Bedingungen am Menschen. Erstmals konnten die physiologischen Normalparameter der humanen hepatischen Mikrozirkulation quantitativ ermittelt werden. Sowohl bei der orthotropen als auch bei der Leberlebendtransplantation ermöglicht OPSI direkt im Operationssaal die subjektive Einschätzung der initialen Mikrozirkulation nach Reperfusion im Transplantationsprozess. Die anschließende computergestützte quantitative off-line Messung verschiedener Perfusionsparameter erlaubt die exakte Analyse der mikrozirkulatorischen Beeinflussung durch Ischämie und Reperfusion im Transplantationsprozess. Die Korrelation der gemessenen Mikrozirkulationsparameter mit postoperativen Transaminasen und transplantationsspezifischen Daten ermöglicht die Untersuchung von Parametern, welche die Ischämie/Reperfusion-Schäden beeinflussen. Damit ist OPSI den anderen nicht-bildgebenden Verfahren wie Inert gas clearance [99], Thermodiffusion [84] und Laser Doppler flowmetry [97, 98] weit überlegen, da diese nur indirekt Auskunft über die Perfusion geben, nicht jedoch die Analyse einzelner mikrozirkulatorischer Parameter wie sinusoidaler Durchmesser, Erythrozytenflussgeschwindigkeit, intersinusoidaler Abstand, funktionale sinusoidale Dichte und volumetrischer Blutfluss ermöglichen. Die unter klinischen Bedingungen gemessenen Parameter der humanen physiologischen Mikrozirkulation waren mit Ausnahme der Erythrozytenflussgeschwindigkeit normalverteilt.

Bei den orthotopen Lebertransplantationen ist eine ausgeprägte postischämische reaktive Hyperämie festzustellen, die sich durch eine Zunahme des volumetrischen Blutflusses (VBF) in den Einzelsinusoiden auszeichnet. Die Steigerung des VBF im frühen Intervall nach Reperfusionbeginn scheint ein bedeutender Faktor zur Sicherstellung einer adäquaten Gewebepfusion zu sein, die für einen zügigen Abtransport von toxischen, postischämischen Metaboliten und die Zuführung von Sauerstoff von entscheidender Bedeutung ist. Der gesteigerte VBF in den funktionell perfundierten Einzelsinusoiden kompensiert auch teilweise die verminderte funktionelle sinusoidale Dichte, die in den ersten 30 Minuten nach Reperfusion eine Perfusion von nur ca. 73 % der anatomisch vorhandenen Sinusoide im Vergleich zur physiologischen Kontrollgruppe zeigt. Des Weiteren wurde eine inverse Korrelation zwischen dem VBF



30 Minuten nach Reperfusion und der Dauer der kalten Ischämiezeit beobachtet. Hieraus lässt sich ableiten, dass ein verzögerter Organtransport sich negativ auf die initiale Reperfusion auswirkt.

Eine weitere wichtige Zielsetzung dieser Arbeit ist die Überprüfung der als Standard anzusehenden Reperfusionstechnik mit initialer portalvenöser Reperfusion und sequentieller Rearterialisierung in Bezug auf die folgende Mikrozirkulationsstörung und die Gegenüberstellung mit der in der eigenen Klinik favorisierten simultanen Reperfusion von Pfortader und Leberarterie. Diese Untersuchungen wurden im Rahmen der Leberlebendtransplantation durchgeführt. Die alleinige portale Reperfusion führt nicht zu einer ausreichenden nutritiven Perfusion, wodurch das Transplantat initial geschädigt wird. Dies beweist die negative Korrelation der mikrohämodynamischen Parameter mit den postoperativen Transaminasewerten. Die folgende Rearterialisierung führte zu einer zügigen Wiederherstellung einer adäquaten Perfusion mit sich einstellender postischämischer Hyperämie. Diese resultierte aus einer Erhöhung des volumetrischen Blutflusses der einzelnen Sinusoide, analog zu den Messungen bei den orthotopen Lebertransplantationen. Die funktionelle sinusoidale Dichte konnte jedoch nicht innerhalb der ersten 30 Minuten nach Rearterialisierung entsprechend den physiologischen Normalwerten wiederhergestellt werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Zeitintervall portale-arterielle Reperfusion und den gemessenen mikrozirkulatorischen Parametern. Im Gegensatz dazu hatten die Zeitdauer der anhepatischen Phase und die kurze kalte Ischämiezeit keinen wesentlichen Einfluss auf die hepatische Mikrozirkulation. Die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse stützen die tierexperimentellen Daten [80, 161, 162, 187, 188], die ebenfalls zeigen, dass eine initiale Arterialisierung notwendig ist, um eine suffiziente nutritive Perfusion nach I/R herzustellen. Eine alleinige portale Perfusion führt zu einer frühzeitigen Transplantaterwärmung mit einhergehender Hypoxie [80]. Die aufgeführten Arbeiten und die Messergebnisse dieser Studie unterstützen die simultane Reperfusion als geeignetes Standardprotokoll für die Reperfusion bei der humanen Lebertransplantation.

Die vorliegende Studie unterstreicht die Wertigkeit der OPSI Methode als ein geeignetes Verfahren zur Mikrozirkulationsmessung am Menschen. Ausblickend ermöglicht diese Methode die Durchführung weiterer klinisch orientierter Forschungsarbeiten im Hinblick auf die positive Beeinflussung der initialen Mikrozirkulation im Lebertransplantationsprozess.

## 11 Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ALT	Alanin-Amino-Transferase
AST	Aspartat-Amino-Transferase
ATP	Adenosine triphosphate
Ca <sup>2+</sup>	ionisiertes Calcium
D	sinusoidaler Durchmesser
EC	Euro-Collins Perfusat
ET	Endotheline
ETRA	Endothelin receptor antagonist
FKD	funktionelle kapillare Dichte
FSD	Funktionelle sinusoidale Dichte
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
HI	homogeneous index
HTK	Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate
I / R	Ischämie und Reperfusion
ICAM-1	intercellular adhesion molecule 1 (CD54)
ICAM-2	intercellular adhesion molecule 2
IE	internationale Einheiten
IL-1	Interleukin-1
IP	Ischämische Präkondizunierung
ISD	Intersinusoidale Dichte
IVM	Intravitalmikroskopie
LDH	Lactate dehydrogenase
LECAM-1	L-Selektin
LFA-1	lymphocyte function-associated antigen-1

Mac-1	metal-binding activator 1
MHC	Major Histocompatibility Complex
NO	Stickstoffmonoxid
OLTX	orthotope full size Kadaver Lebertransplantationen
OPSI	Orthogonal Polarization Spectral Imaging
PAF	platelet activating factor
pH	$-\log[H^+]$
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
POT	Postoperativer Tag
PT	Prothrombinzeit
RBCV	Erythrozytenflussgeschwindigkeit
rh-SOD	humane rekombinante Superoxid-dis-Mutase
THA	terminale hepatische Arteriolen
TNF	Tumornekrosefaktor
TPV	portale terminale Venolen
UW	University of Wisconsin Perfusat
VBF	volumetric blood flow
VP-AH- Intervall	Zeitintervall zwischen portaler Reperfusion und subsequenter Reperfusion der Arteria hepatica

## 12 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Demographische und transplantatspezifische Daten der Patientengruppe IIA – sequentielle reperfundierte Leberlebendtransplantation .....	26
Tabelle 2: Diagnosen der Patienten der Gruppe IIA – sequentielle reperfundierte Leberlebendtransplantation .....	26
Tabelle 3: Demographische und transplantatspezifische Daten der Gruppe IIB – simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen .....	28
Tabelle 4: Diagnosen der Patienten der Gruppe IIB - simultan reperfundierte Leberlebend-transplantation .....	29
Tabelle 5: Demographische Daten der Patientengruppe III - Orthotope Lebertransplantation .....	30
Tabelle 6: Transplantatspezifische Daten der Patientengruppe III - Orthotope Lebertransplantation .....	30
Tabelle 7: Diagnosen der Patientengruppe III – Orthotope Lebertransplantation .....	31
Tabelle 8: Diagnosen der Organspender für die orthotopen Lebertransplantationen ....	31
Tabelle 9: Hämodynamische und klinische Parameter bei der Organentnahme der Spender.....	32
Tabelle 10: Hämodynamische- und Blutgasparameter während der drei mikrozirkulatorischen Messintervalle in der Gruppe IIA - sequentiell reperfundierte Leberlebendtransplantationen.....	48
Tabelle 11: Hämodynamische- und Blutgasparameter während der mikrozirkulatorischen Messintervalle in der Gruppe IIB - simultan reperfundierte Leberlebendtransplantationen.....	57
Tabelle 12: Hämodynamische- und Blutgasparameter während der mikrozirkulatorischen Messintervalle in der Gruppe III – orthotope Lebertransplantationen .....	63
Tabelle 13: Tabellarische Übersicht transplantationsspezifischer Daten in der OLTX – Gesamtgruppe und Aufschlüsselung der Daten in den ASAT- spezifischen Untergruppen. ....	72

### 13 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung einer mikrovaskulären Einheit mit ihrer zellulären Architektur nach Oda et al. [11] S=Sinusoid, PVn=portale Venole, TPVn=terminale portale Venole, HAo=hepatische Arteriole, THAo=terminale hepatische Arteriole, THVn=terminale hepatische Venole, BD=Gallengang, AN=autonome Nervenenden, PML=polymorphe Leukozyten, Ly=Lymphozyt, Mo=Monozyt, E=Erythrozyt, PI=Thrombozyt, E=sinusoidales Endothel, IC=Ito Zelle, K=Kupffer'sche Sternzelle, PC=Pit-Zelle, H=Hepatozyt, SMC=glatte Muskelzellen. ....	11
Abbildung 2: Optische Schemazeichnung eines OPSI Messkopfes modifiziert nach Groner et al.[110]. ....	36
Abbildung 3: Orthogonal polarization spectral imaging Messkopf nach Groner et al.[110] .....	36
Abbildung 4: Vermessung der sinusoidalen Durchmesser (links) und der intersinusoidalen Abstände ISD (rechts) im Messbild. ....	39
Abbildung 5: Ermittlung der funktionellen sinusoidalen Dichte FSD im Messbild.....	40
Abbildung 6: OPS-Aufnahme der humanen hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen. ....	45
Abbildung 7: Histogramme der Erythrozytenflussgeschwindigkeit in humanen hepatischen Sinusoiden sowie deren Durchmesser unter physiologischen Bedingungen. Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov. ....	46
Abbildung 8: Histogramme des sinusoidalen volumetrischen Blutflusses in pl/s und des intersinusoidalen Abstandes in $\mu\text{m}$ der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen. Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov. ....	47
Abbildung 9: Links: Histogramm der funktionalen sinusoidalen Dichte in $\text{cm}^{-1}$ . Test auf Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov. Rechts: Darstellung der Heterogenitätsindizes für den sinusoidalen Durchmesser (D), die intersinusoidale Distanz (ISD), die funktionale sinusoidale Dichte (FSD) sowie die Erythrozytenflussgeschwindigkeit (RBCV). ....	47
Abbildung 10: In vivo OPS-Bildgebung der humanen hepatischen Mikrozirkulation unter physiologischen Bedingungen. Der Kontrast entsteht infolge von Absorption des in das Gewebe emittierten Lichtes durch das in den Erythrozyten enthaltene Hämoglobin. Somit erscheinen die Hämoglobin tragenden Zellen im negativen Kontrast zum umliegenden Gewebe. Daraus erklärt sich, dass sich parenchymale- oder Endothelzellen und somit z.B. Gefäßwände mit dieser Technik nicht darstellen lassen. Die Erythrozyten sind eng aneinander säulenförmig angeordnet und repräsentieren damit das innere Gefäßlumen. Die Pfeile zeigen Sinusoide und postsinusoidale Venolen, die in einen Seitenast einer Zentralvene drainieren. ....	49

- Abbildung 11: Nach initialer isolierter Pfortaderreperfusion zeigt sich eindrucksvoll die massive Rarifizierung des sinusoidalen Netzwerkes. Der Blutfluss ist in Korrespondenz zur Patientenatmung innerhalb der Sinusoide oszillierend, veranschaulicht durch die schwarzen Pfeile.....49
- Abbildung 12: Nach Reperfusion der Arteria hepatica erfolgt eine rasche Wiederherstellung des sinusoidalen Blutflusses, der nun wieder unidirektional und mehr homogen ist. Dennoch sind die Sinusoide im Vergleich zu den physiologischen Werten dilatiert (schwarze Pfeile). Auch nach 30 Minuten Reperfuionszeit konnten teilweise Erythrozytenaggregation, residuelle Blutstase und Erythrozytenextravasation als Ausdruck einer Reperfusionsschädigung beobachtet werden (weiße Pfeile). .....50
- Abbildung 13: Links: Der sinusoidale Durchmesser der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), mit anschließender initialer portaler Reperfusion (PV) sowie 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach anschließender arterieller Reperfusion in [ $\mu\text{m}$ ]. Rechts: Die prozentuale Änderung zum Basiswert, + = Signifikant mit  $p < 0,05$  zum Basiswert., # = Signifikant mit  $p < 0,05$  zur initialen portalen Reperfusion. ....51
- Abbildung 14: Links: Erythrozytenflussgeschwindigkeit [ $\mu\text{m/s}$ ] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), nach initialer portaler Reperfusion (PV), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach erfolgter Rearterialisierung. Rechts: Prozentuale Änderung [%] der Erythrozytenflussgeschwindigkeit bezogen auf den physiologischen Basiswert. + =  $p < 0,05$  versus Basiswert, # =  $p < 0,05$  versus initialer portaler Reperfusion, o =  $p < 0,05$  versus 5 Minuten Rearterialisierung....52
- Abbildung 15: Links: Sinusoidaler volumetrischer Blutfluss [ $\text{pl/s}$ ] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), nachfolgender portaler Reperfusion (PV), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach subsequent folgender Arterialisierung. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des sinusoidalen volumetrischen Blutflusses zum physiologischen Basiswert. + =  $p < 0,05$  versus Basiswert; # =  $p < 0,05$  versus initialer portaler Reperfusion; o =  $p < 0,05$  versus 5 Minuten Rearterialisierung....52
- Abbildung 16: Links: Funktionale sinusoidale Dichte [ $\text{cm}^{-1}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), nach initialer portaler Reperfusion (PV), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach subsequent folgender Arterialisierung. Rechts: Prozentuale Änderung der funktionalen sinusoidalen Dichte zum physiologischen Basiswert. + =  $p < 0,05$  versus Basiswert; # =  $p < 0,05$  versus initialer portaler Reperfusion. ....53
- Abbildung 17: Intersinusoidaler Abstand [ $\mu\text{m}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), nach initialer portaler Reperfusion (PV), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach subsequent folgender Arterialisierung. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des intersinusoidalen Abstandes zum physiologischen Basiswert. + =  $p < 0,05$  versus Basiswert; # =  $p < 0,05$  versus initialer portaler Reperfusion. ....54

Abbildung 18: Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zwischen Pfortader - Arterie hepatica - Zeitintervall und funktioneller sinusoidaler Dichte (Messzeitpunkt 30 Minuten nach Rearterialisierung) zeigt eine inverse Korrelation mit $r = - 0,66$ bei $p < 0,05$ . Je länger das VP-HA-Zeitintervall ist, umso mehr fällt die FSD ab.....	55
Abbildung 19: Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zwischen Pfortader - Arteria hepatica - Zeit- intervall und sinusoidalem volumetrischen Blutfluss (Messzeitpunkt 30 Minuten nach Rearterialisierung) zeigt eine direkte Korrelation mit $r = 0,84$ ( $p < 0,05$ ). Je länger das VP-HA-Zeitintervall ist, umso mehr steigt der sinusoidale volumetrische Blutfluss an.....	55
Abbildung 20: Die hepatische Mikrozirkulation der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen. Deutlich ist das für die Leber typische sinusoidale Netzwerk zu erkennen mit Drainage in eine Venole.....	58
Abbildung 21: Die hepatische Mikrozirkulation der humanen Leber nach links 5 Minuten und rechts 30 Minuten nach simultaner Reperfusion. ....	58
Abbildung 22: Links: Der sinusoidale Durchmesser der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL) sowie 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion in [ $\mu\text{m}$ ]. Rechts: Die zweite Abbildung zeigt die prozentuale Änderung zum Basiswert. ....	59
Abbildung 23: Links: Die Erythrozytenflussgeschwindigkeit der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion in [ $\text{pl/s}$ ]. Rechts: Die zweite Abbildung zeigt die prozentuale Änderung zum Basiswert. ....	59
Abbildung 24: Links: Sinusoidaler volumetrischer Blutfluss [ $\text{pl/s}$ ] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des sinusoidalen volumetrischen Blutflusses zum physiologischen Basiswert.....	60
Abbildung 25: Links: Funktionelle sinusoidale Dichte [ $\text{cm}^{-1}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] der funktionellen sinusoidalen Dichte zum physiologischen Basiswert.....	60
Abbildung 26: Intersinusoidaler Abstand [ $\mu\text{m}$ ] in der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (BL), 5 Minuten (HA5) und 30 Minuten (HA30) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des intersinusoidalen Abstandes zum physiologischen Basiswert. ....	61
Abbildung 27: Gegenüberstellung des sinusoidalen Durchmessers (links), der Erythrozytenfluss-geschwindigkeit (rechts) bei sequentieller versus simultaner Reperfusion. ....	62
Abbildung 28: Gegenüberstellung des volumetrischen Blutflusses (links), der funktionellen sinusoidalen Dichte (rechts) bei sequentieller versus simultaner Reperfusion. ....	62

- Abbildung 29: Gegenüberstellung des intersinusoidalen Abstandes bei sequentieller und simultaner Reperfusion .....62
- Abbildung 30: OPS-Bildgebung nach orthotroper Lebertransplantation. Links: 5 Minuten nach simultaner Reperfusion, rechts: 30 Minuten nach simultaner Reperfusion. 5 Minuten nach Reperfusion zeigt sich eine noch relativ inhomogene Perfusion, die in eine mehr homogene Perfusion mit deutlich mehr perfundierten Sinusoiden 30 Minuten nach Reperfusion übergeht...64
- Abbildung 31: Links: Der sinusoidale Durchmesser in der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (Kontrollgruppe (KG)), 5 Minuten (5 RP) und 30 Minuten (30 RP) nach simultaner Reperfusion der transplantierten full-size Leber in [ $\mu\text{m}$ ]. Rechts: Die Abbildung zeigt die prozentuale Änderung zur Kontrollgruppe und zwischen den beiden Messzeitpunkten 5 und 30 Minuten nach Reperfusion. # = Signifikant mit  $p < 0,05$  zum Messwert der Kontrollgruppe.....65
- Abbildung 32: Links: Erythrozytenflussgeschwindigkeit [ $\mu\text{m/s}$ ] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (KG), 5 Minuten (5PR) und 30 Minuten (30PR) nach erfolgter simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] der Erythrozytenfluss-geschwindigkeit bezogen auf die Kontrollgruppe und zwischen 5 und 30 Minuten nach Reperfusion. # =  $p < 0,05$  versus Kontrollgruppe.....65
- Abbildung 33: Links: Sinusoidaler volumetrischer Blutfluss [ $\text{pl/s}$ ] in Sinusoiden der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (KG), 5 Minuten (5 RP) und 30 Minuten (30 RP) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des sinusoidalen volumetrischen Blutflusses zur Kontrollgruppe und zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion. ....66
- Abbildung 34: Links: Funktionelle sinusoidale Dichte [ $\text{cm}^{-1}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (KG) sowie 5 Minuten (5 RP) und 30 Minuten (30 RP) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] der funktionellen sinusoidalen Dichte zur Kontrollgruppe und zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion. # =  $p < 0,05$  versus Kontrollgruppe.....67
- Abbildung 35: Intersinusoidaler Abstand [ $\mu\text{m}$ ] der humanen Leber unter physiologischen Bedingungen (KG) sowie 5 Minuten (5 RP) und 30 Minuten (30 RP) nach simultaner Reperfusion. Rechts: Prozentuale Änderung [%] des intersinusoidalen Abstandes zum physiologischen Basiswert der Kontrollgruppe und zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion. # =  $p < 0,05$  versus Kontrollgruppe.....67
- Abbildung 36: Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zeigt eine inverse Korrelation zwischen VBF und FSD mit  $r = - 0,744$  ( $p < 0,05$ ) 5 Minuten nach Reperfusion.....68
- Abbildung 37: Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation zeigt eine schwach inverse Korrelation zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen



Blutflusses (VBF) im Zeitintervall zwischen 5 Minuten und 30 Minuten nach Reperfusion und der kalten Ischämiezeit mit $r = -0,402$ ( $p < 0,05$ ). .....	69
Abbildung 38: Darstellung des postoperativen Verlaufs der ASAT- und ALAT- Werte innerhalb der ersten 5 postoperativen Tage. Bereits am 1. POT erreichen beide Parameter ihren Maximalwert. ....	70
Abbildung 39: Darstellung des postoperativen ASAT- Verlaufs mit Aufteilung in zwei Gruppen mit einem Schwellenwert von 1000 U/l. Innerhalb der ersten fünf POT differiert signifikant der Verlauf der Gruppe mit ASAT-Werten über 1000 U/l gegenüber der Gruppe mit ASAT-Werten unter 1000 U/l. ....	70
Abbildung 40: Darstellung des postoperativen Verlaufs des Gesamtbilirubin innerhalb der ersten fünf POT nach orthotoper Lebertransplantation in der Gesamtgruppe (27 Patienten). ....	71
Abbildung 41: Darstellung des Bilirubinverlaufs in den beiden Gruppen ASAT – Werte $< 1000$ U/l versus $> 1000$ U/l. Signifikante Differenzen (*) des Bilirubinwertes zwischen den beiden Gruppen treten nur an den POT 2 und POT 3 auf. .	71
Abbildung 42: Links: Zusammenhang zwischen der kalten Ischämiezeit und den postoperativen ASAT - Werten der Gesamtgruppe mit einer positiven Korrelation ( + ) an den POT 3-5. Rechts: Zusammenhang zwischen der kalten Ischämiezeit und den postoperativen ASAT – Werten der Untergruppen mit maximalen ASAT – Werten $< 1000$ U/l und $> 1000$ U/l. In der Gruppe $< 1000$ U/l besteht eine positive Korrelation ( * ) an den POT 3-5, in der Gruppe $> 1000$ U/l besteht eine positive Korrelation ( # ) an den POT 3 und 4 ( $p < 0,05$ ). ....	73
Abbildung 43: Zusammenhang zwischen kalter Ischämiezeit und postoperativen Bilirubinwerten. Am 4. POT besteht eine positive Korrelation ( $p < 0,05$ ) mit $r = 0,414$ . ....	73
Abbildung 44: Korrelation zwischen der FSD und ASAT am Beispiel des 5. postoperativen Tages. ....	74
Abbildung 45 : Links: Darstellung der Korrelationskoeffizienten $r$ zwischen der FSD 5 Minuten nach Reperfusion und den postoperativen ASAT – Werten. Rechts: Darstellung der Korrelationskoeffizienten $r$ der beiden ASAT – Gruppen $< 1000$ U/l und $> 1000$ U/l versus FSD 5 Minuten nach Reperfusion #, *, + = signifikant mit $p < 0,05$ . ....	75
Abbildung 46: Darstellung der FSD in den beiden ASAT – Gruppen $< 1000$ U/l und $> 1000$ U/l am 1. POT 5 Minuten nach Reperfusion (links) und 30 Minuten nach Reperfusion (rechts). Die FSD – Werte unterschieden sich nicht signifikant zwischen den ASAT – Gruppen $< 1000$ U/l und $> 1000$ U/l. ....	75
Abbildung 47: Links: Korrelation zwischen FSD 5 RP versus Bilirubin am Beispiel des 5. postoperativen Tages. Rechts: Korrelationskoeffizienten $r$ zwischen FSD 5 RP und Bilirubin an den postoperativen Tagen, # = signifikant mit $p < 0,05$ . ....	76

Abbildung 48: Links: Korrelation zwischen den ASAT – Werten am 4. POT und der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses zwischen 5 und 30 Minuten nach Reperfusion. Rechts: Regressionskoeffizienten  $r$  zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses 5 RP – 30 RP und den postoperativen ASAT – Werten ( # = signifikant mit  $p < 0,05$ ). ...77

Abbildung 49: Regressionskoeffizienten  $r$  zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses 5 RP – 30 RP und den ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l ( \*, # = signifikant mit  $p < 0,05$ ). Rechts: Signifikante Differenz (  $p < 0,05$  ) der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses zwischen den beiden ASAT – Gruppen  $< 1000$  U/l und  $> 1000$  U/l. ....77

Abbildung 50: Links: Darstellung der Regression zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses 5 RP - 30 RP und Bilirubin am 4 POT. Rechts: Darstellung der Korrelationskoeffizienten zwischen der prozentualen Änderung des volumetrischen Blutflusses 5 RP – 30 RP und den postoperativen Bilirubinwerten.....78

## 14 Bibliographie

1. Hartley, P; Petruckevitch, A; Reeves, B, et al. (2001): The National Liver Transplantation audit: an overview of patients presenting for liver transplantation from 1994 to 1998. On behalf of the Steering Group of the UK Liver Transplantation Audit., *Br J Surg* (vol. 88(1)), No. Jan, pp. 52-8.
2. Adam, R; McMaster, P; O'Grady, JG, et al. (2003): Evolution of liver transplantation in Europe: report of the European Liver Transplant Registry., *Liver Transpl.* (vol. 9 Dec), No. 12, pp. 1231-43.
3. Smith, CM; Davies, DB and McBride, MA (1999): Liver transplantation in the United States: a report from the UNOS Liver Transplant Registry., *Clin Transpl*, pp. 23-34.
4. Wolff, M; Kalff, JC; Schwarz, NT, et al. (2003): Liver transplantation in Germany, *Zentralbl Chir.* (vol. 128 Oct), No. 10, pp. 831-41.
5. Adam, R; Cailliez, V; Majno, P, et al. (2000): Normalised intrinsic mortality risk in liver transplantation: European Liver Transplant Registry study., *Lancet* (vol. 356(9230)), No. Aug 19, pp. 621-7.
6. Clemens, MG; McDonagh, PF; Caudry, IH, et al. (1985): Hepatic microcirculatory failure after ischemia and reperfusion: improvement with ATP-MgCl<sub>2</sub> treatment, *Am J Physiol* (vol. 248), pp. H804-H811.
7. Vollmar, B; Menger, MD; Glasz, J, et al. (1994): Impact of leukocyte-endothelial cell interaction in hepatic ischemia-reperfusion injury., *Am J Physiol* (vol. 267), No. 5 Pt 1, pp. G786-793.
8. Menger, MD; Richter, S; Yamauchi, J, et al. (1999): Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury., *Hepatogastroenterology* (vol. Jun;46 Suppl 2), pp. 1452-7.
9. Rappaport, AM (1980): Hepatic blood flow: morphologic aspects and physiologic regulation., *Int Rev Physiol* (vol. 21), pp. 1-63.
10. Wisse, E (1970): An electron microscopic study of the fenestrated endothelial lining of rat liver sinusoids., *J Ultrastruct Res* (vol. Apr;31), No. 1, pp. 125-50.
11. Oda, M; Han, JY and Yokomori, H (2000): Local regulators of hepatic sinusoidal microcirculation: recent advances, *Clin Hemorheol Microcirc* (vol. 23), No. 2, 3, 4, pp. 85-94.

12. NAKATA, K; LEONG, GF and BRAUER, W (1960): Direct measurement of blood pressures in minute vessels of the liver., *Am J Physiol.* (vol. Dec;199), pp. 1181-8.
13. McCuskey, RS (1966): A dynamic and static study of hepatic arterioles and hepatic sphincters., *Am J Anat.* (vol. Nov;119), No. 3, pp. 455-77.
14. Rhodin, JA (1967): The ultrastructure of mammalian arterioles and precapillary sphincters., *J Ultrastruct Res* (vol. Apr;18), No. 1, pp. 181-223.
15. Gatmaitan, Z; Varticovski, L; Ling, L, et al. (1996): Studies on fenestral contraction in rat liver endothelial cells in culture., *Am J Pathol.* (vol. Jun;148), No. 6, pp. 2027-41.
16. Oda, M; Yokomori, H and Han, JY (2003): Regulatory mechanisms of hepatic microcirculation., *Clin Hemorheol Microcirc* (vol. 29), No. 3-4, pp. 167-82.
17. Yokomori, H; Oda, M; Ogi, M, et al. (2003): Endothelin-1 suppresses plasma membrane Ca<sup>++</sup>-ATPase, concomitant with contraction of hepatic sinusoidal endothelial fenestrae., *Am J Pathol* (vol. Feb;162), No. 2, pp. 557-66.
18. Yanagisawa, M; Kurihara, H; Kimura, S, et al. (1988): A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells., *Nature* (vol. Mar 31;332), No. 6163, pp. 411-5.
19. Palmer, RM; Ferrige, AG and Moncada, S (1987): Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor., *Nature* (vol. Jun 11-17;327), No. 6122, pp. 524-6.
20. Bauer, M; Bauer, I; Sonin, NV, et al. (2000): Functional significance of endothelin B receptors in mediating sinusoidal and extrasinusoidal effects of endothelins in the intact rat liver., *Hepatology* (vol. Apr;31), No. 4, pp. 937-47.
21. Oda, M; Yokomori, H and Kamegaya, Y (1999): Roles of sinusoidal endothelial cells in the local regulation of hepatic sinusoidal blood flow - Involvement of endothelins and nitric oxide, *Liver Diseases and Hepatic Sinusoidal Cells*, Springer-Verlag, Tokyo, pp. 141-155.
22. Oda, M; Nakamura, M and Watanabe, N (1983): Some dynamic aspects of the hepatic microcirculation: demonstration of sinusoidal endothelial fenestrae as a possible regulatory factor, in, *Intravital Observation of Organ Microcirculation*, M. Tsuchia, H. Wayland, M. Oda et al., eds, Excerpta Medica, Amsterdam, pp. 105-183.

23. Oda, M; Azuma, T and Watanabe, N (1990): Regulatory mechanisms of the hepatic microcirculation . Involvement of the contraction and dilation of sinusoids and sinusoidal endothelial fenestrae, *Prog. Appl. Microcirc* 17, pp. 103-128.
24. Oda, M; Kamegaya, Y and Yokomori, H (1997): Roles of plasma membrane  $Ca^{++}$  -ATPase in the relaxation and contraction of hepatic sinusoidal endothelial fenestrae-effects of Prostaglandine E1 and endothelin 1, *Cells of the Hepatic Sinusoid* (vol. 6), pp. 313-317.
25. Bioulac-Sage, P; Lafon, ME; Saric, J, et al. (1990): Nerves and perisinusoidal cells in human liver., *J Hepatol* (vol. Jan;10), No. 1, pp. 105-12.
26. Scoazec, JY; Racine, L; Couvelard, A, et al. (1993): Parenchymal innervation of normal and cirrhotic human liver: a light and electron microscopic study using monoclonal antibodies against the neural cell-adhesion molecule., *J Histochem Cytochem* (vol. Jun;41), No. 6, pp. 899-908.
27. Lin, YS; Nosaka, S; Amakata, Y, et al. (1995): Comparative study of the mammalian liver innervation: an immunohistochemical study of protein gene product 9.5, dopamine beta-hydroxylase and tyrosine hydroxylase., *Comp Biochem Physiol A Physiol* (vol. Apr;110), No. 4, pp. 289-98.
28. Akiyoshi, H; Gonda, T and Terada, T (1998): A comparative histochemical and immunohistochemical study of aminergic, cholinergic and peptidergic innervation in rat, hamster, guinea pig, dog and human livers., *Liver* (vol. Oct;18), No. 5, pp. 352-9.
29. Erhard, J; Lange, R; Scherer, R, et al. (1994): Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution versus University of Wisconsin (UW) solution for organ preservation in human liver transplantation. A prospective, randomized study., *Transpl Int.* (vol. 7 May), No. 3, pp. 177-81.
30. Kehrer, JP; Jones, DP; Lemasters, JJ, et al. (1990): Mechanisms of hypoxic cell injury. Summary of the symposium presented at the 1990 annual meeting of the Society of Toxicology., *Toxicol Appl Pharmacol* (vol. Nov;106(2)), pp. 165-78.
31. Karwinski, W; Husoy, AM; Farstad, M, et al. (1989): Sixty minutes of normothermic ischemia in the rat liver: correlation between adenine nucleotides and bile excretion., *J Surg Res* (vol. Feb;46(2)), pp. 99-103.
32. Carini, R; Bellomo, G; Benedetti, A, et al. (1995): Alteration of  $Na^{+}$  homeostasis as a critical step in the development of irreversible hepatocyte injury after adenosine triphosphate depletion., *Hepatology* (vol. Apr;21(4)), pp. 1089-98.

33. Gasbarrini, A; Borle, AB; Farghali, H, et al. (1992): Effect of anoxia on intracellular ATP, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, and cytotoxicity in rat hepatocytes., *J Biol Chem* (vol. Apr 5;267(10)), pp. 6654-63.
34. Ikeda, T; Yanaga, K; Kishikawa, K, et al. (1992): Ischemic injury in liver transplantation: difference in injury sites between warm and cold ischemia in rats., *Hepatology* (vol. Aug 16), No. 2, pp. 454-61.
35. Imamura, Hiroshi; Brault, Antoine and Huet, Pierre-Michael (1997): Effects of Extended Cold Preservation and Transplantation on the Rat Liver Microcirculation, *Hepatology* (vol. 25), No. No. 3, pp. 664-671.
36. Carini, R; Autelli, R; Bellomo, G, et al. (1995): Sodium-mediated cell swelling is associated with irreversible damage in isolated hepatocytes exposed to hypoxia or mitochondrial toxins., *Biochem Biophys Res Commun* (vol. Jan 5;206(1)), pp. 180-5.
37. Haussinger, D (1996): The role of cellular hydration in the regulation of cell function., *Biochem J* (vol. Feb 1;313 ( Pt 3)), pp. 697-710.
38. Bellomo, G; Fulceri, R; Albano, E, et al. (1991): Ca<sup>2+</sup>-dependent and independent mitochondrial damage in hepatocellular injury., *Cell Calcium* (vol. May;12(5)), pp. 335-41.
39. Bindoli, A (1988): Lipid peroxidation in mitochondria., *Free Radic Biol Med* (vol. 5(4)), pp. 247-61.
40. Cheung, JY; Bonventure, JV; Malis, CD, et al. (1986): Calcium and ischemic injury., *N Engl J Med* (vol. Jun 26;314(26)), pp. 1670-6.
41. Farber, JL and Young, EE (1981): Accelerated phospholipid degradation in anoxic rat hepatocytes., *Arch Biochem Biophys* (vol. Oct 1;211(1)), pp. 312-20.
42. Chien, KR; Abrams; Serroni, A, et al. (1978): Accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction in irreversible, ischemic liver cell injury., *J Biol Chem* (vol. 253 Jul. 10), No. 13, pp. 4809-17.
43. Farber, JL (1981): The role of calcium in cell death., *Life Sci.* 1981 Sep 28;29(13): (vol. 29 Sep 28), No. 13, pp. 1289-95.
44. Florine-Casteel, K; Lemasters, JJ and Herman, B (1991): Lipid order in hepatocyte plasma membrane blebs during ATP depletion measured by digitized video fluorescence polarization microscopy., *FASEB J.* (vol. Apr 5), No. 7, pp. 2078-84.

45. Gores, GJ; Herman, B and Lemasters, JJ (1990): Plasma membrane bleb formation and rupture: a common feature of hepatocellular injury., *Hepatology* (vol. Apr;11), No. 4, pp. 690-8.
46. Schon, MR; Hunt, CJ; Pegg, DE, et al. (1993): The possibility of resuscitating livers after warm ischemic injury., *Transplantation* (vol. Jul;56), No. 1, pp. 24-31.
47. Porte, RJ; Ploeg, RJ; Hansen, B, et al. (1998): Long-term graft survival after liver transplantation in the UW era: late effects of cold ischemia and primary dysfunction. European Multicentre Study Group., *Transpl Int.* (vol. 11 Suppl 1), pp. S164-7.
48. Richter, S; Yamauchi, J; Minor, T, et al. (2000): Effect of warm ischemia time and organ perfusion technique on liver microvascular preservation in a non-heart-beating rat model., *Transplantation.* (vol. 69 Jan), No. 1, pp. 20-4.
49. He, XS; Ma, Y; Wu, LW, et al. (2003): Influence of warm ischemia injury on hepatic functional status and survival of liver graft in rats., *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* (vol. 2 Nov.), No. 4, pp. 504-8.
50. Schon, MR; Kollmar, O; Akkoc, N, et al. (1998): Cold ischemia affects sinusoidal endothelial cells while warm ischemia affects hepatocytes in liver transplantation., *Transplant Proc.* (vol. 30 Aug), No. 5, pp. 2318-20.
51. McKeown, CM; Edwards, V; Phillips, MJ, et al. (1988): Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat., *Transplantation.* (vol. Aug 46), No. 2, pp. 178-91.
52. Caldwell-Kenkel, JC; Thurman, RG and Lemasters, JJ (1988): Selective loss of nonparenchymal cell viability after cold ischemic storage of rat livers., *Transplantation.* (vol. Apr 45), No. 4, pp. 834-7.
53. McCord, JM (1985): Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury., *N Engl J Med.* (vol. Jan 17;312), No. 3, pp. 159-63.
54. Lemasters, JJ; DiGuseppi, J; Nieminen, AL, et al. (1987): Blebbing, free Ca<sup>2+</sup> and mitochondrial membrane potential preceding cell death in hepatocytes., *Nature* (vol. Jan 1-7;325), No. 6099, pp. 78-81.
55. Winwood, PJ and Arthur, MJ (1993): Kupffer cells: their activation and role in animal models of liver injury and human liver disease., *Semin Liver Dis.* (vol. Feb. 13), No. 1, pp. 50-9.

56. Adkison, D; Hollwarth, ME; Benoit, JN, et al. (1986): Role of free radicals in ischemia-reperfusion injury to the liver., *Acta Physiol Scand Suppl.* (vol. 548), pp. 101-7.
57. Granger, DN (1988): Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury., *Am J Physiol.* (vol. Dec;255(6 Pt 2)), pp. H1269-75.
58. Takei, Y; Marzi, I; Gao, WS, et al. (1991): Leukocyte adhesion and cell death following orthotopic liver transplantation in the rat., *Transplantation.* (vol. May;51), No. 5, pp. 959-65.
59. Goto, M; Takei, Y; Kawano, S, et al. (1994): Endothelin-1 is involved in the pathogenesis of ischemia/reperfusion liver injury by hepatic microcirculatory disturbances., *Hepatology.* (vol. Mar;19), No. 3, pp. 675-81.
60. Battistini, B; Forget, MA and Laight, D (1996): Potential roles for endothelins in systemic inflammatory response syndrome with a particular relationship to cytokines., *Shock* (vol. Mar;5), No. 3, pp. 167-83.
61. Menger, MD; Lehr, HA and Messmer, K (1991): Role of oxygen radicals in the microcirculatory manifestations of postischemic injury., *Klin Wochenschr* (vol. Dec 15;69(21-23)), pp. 1050-5.
62. Menger, MD; Steiner, D and Messmer, K (1992): Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "no reflow", *Am J Physiol* (vol. 263), No. 6 Pt 2, pp. H1892-1900.
63. Menger, MD; Pelikan, S; Steiner, D, et al. (1992): Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "reflow paradox", *Am J Physiol* (vol. 263), No. 6 Pt 2, pp. H1901-1906.
64. Gidlof, A; Lewis, DH and Hammersen, F (1988): Fine structure of the human skeletal muscle capillary. A morphometric analysis., *Int J Microcirc Clin Exp* (vol. Jan;7(1)), pp. 43-66.
65. Leaf, A (1973): Cell swelling. A factor in ischemic tissue injury., *Circulation* (vol. Sep;48(3)), pp. 455-8.
66. Reimer, KA and Jennings, RB (1982): Cellular Ion and water shifts. In: *Pathophysiology of shock, anoxia, and ischemia.* Edited by R.A.Cowley and B.F. Trump., Baltimore: Williams and Wilkins, pp. 132-147.
67. Nakayama, S; Kramer, GC; Carlsen, RC, et al. (1985): Infusion of very hypertonic saline to bled rats: membrane potentials and fluid shifts., *J Surg Res* (vol. Feb;38(2)), pp. 180-6.



68. Menger, MD; Sack, FU; Barker, JH, et al. (1988): Quantitative analysis of microcirculatory disorders after prolonged ischemia in skeletal muscle. Therapeutic effects of prophylactic isovolemic hemodilution., *Res Exp Med (Berl)* (vol. 188(3)), pp. 151-65.
69. Grisham, M. B.; Hernandez, L. A. and Granger, D. N. (1986): Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia, *Am J Physiol* (vol. 251), No. 4 Pt 1, pp. G567-74.
70. von Andrian, UH; Chambers, JD; McEvoy, L, et al. (1991): Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte beta 2 integrins in vivo., *Proc Natl Acad Sci U S A* (vol. Sep 1;88(17)), pp. 7538-42.
71. Patel, V. F.; Hardin, J. N.; Mastro, J. M., et al. (1996): Novel acid labile COL1 trityl-linked difluoronucleoside immunoconjugates: synthesis, characterization, and biological activity, *Bioconj Chem* (vol. 7), No. 4, pp. 497-510.
72. Picker, L. J.; Warnock, R. A.; Burns, A. R., et al. (1991): The neutrophil selectin LECAM-1 presents carbohydrate ligands to the vascular selectins ELAM-1 and GMP-140 Novel acid labile COL1 trityl-linked difluoronucleoside immunoconjugates: synthesis, characterization, and biological activity, *Cell* (vol. 66), No. 5, pp. 921-33.
73. Raud, J and Lindbom, L (1993): Leukocyte rolling and firm adhesion in the microcirculation., *Gastroenterology* (vol. Jan;104(1)), pp. 310-4.
74. Jaeschke, H; Farhood, A and Smith, CW (1990): Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo., *FASEB J* (vol. Dec;4(15)), pp. 3355-9.
75. Lerman, A.; Click, R. L.; Narr, B. J., et al. (1991): Elevation of plasma endothelin associated with systemic hypertension in humans following orthotopic liver transplantation, *Transplantation* (vol. 51), No. 3, pp. 646-50.
76. Uhlmann, D; Uhlmann, S and Spiegel, HU (2001): Important role for endothelins in acute hepatic ischemia/reperfusion injury, *J Invest Surg* (vol. 14), No. 1, pp. 31-45.
77. Zhang, B.; Calmus, Y.; Wen, L., et al. (1997): Endothelin-1 induces liver vasoconstriction through both ETA and ETB receptors, *J Hepatol* (vol. 26), No. 5, pp. 1104-10.

78. Rubanyi, G. M. and Polokoff, M. A. (1994): Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology, *Pharmacol Rev* (vol. 46), No. 3, pp. 325-415.
79. Lopez Farre, A.; Riesco, A.; Espinosa, G., et al. (1993): Effect of endothelin-1 on neutrophil adhesion to endothelial cells and perfused heart, *Circulation* (vol. 88), No. 3, pp. 1166-71.
80. Post, Stephan, M.D.; Palma, Pablo, M.D.; Gonzalez, Alberto P, M.D., et al. (1994): Timing of Arterialization in Liver Transplantation, *Annals of Surgery* (vol. 220), No. No. 5, pp. 691-698.
81. Anthuber, M; Farkas, S; Rihl, M, et al. (1997): Angiotensin-converting enzyme inhibition by enalapril: a novel approach to reduce ischemia/reperfusion damage after experimental liver transplantation, *Hepatology* (vol. 25), No. 3, pp. 648-651.
82. Terajima, H; Enders, G; Thiaener, A, et al. (2000): Impact of hyperthermic preconditioning on postischemic hepatic microcirculatory disturbances in an isolated perfusion model of the rat liver, *Hepatology* (vol. 31), No. 2, pp. 407-415.
83. Glanemann, M; Vollmar, B; Nussler, AK, et al. (2003): Ischemic preconditioning protects from hepatic ischemia/reperfusion-injury by preservation of microcirculation and mitochondrial redox-state., *J Hepatol* (vol. Jan;38(1)), pp. 59-66.
84. Klar, E.; Kraus, T.; Bredt, M., et al. (1996): First clinical realization of continuous monitoring of liver microcirculation after transplantation by thermodiffusion, *Transpl Int* (vol. 9 Suppl 1), pp. S140-3.
85. Klar, E.; Angelescu, M.; Zapletal, C., et al. (1998): [Disorders of hepatic microcirculation as early manifestation of rejection in clinical liver transplantation], *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* (vol. 115), No. Suppl I, pp. 371-5.
86. Land, W.; Schneeberger, H.; Schleibner, S., et al. (1994): The beneficial effect of human recombinant superoxide dismutase on acute and chronic rejection events in recipients of cadaveric renal transplants, *Transplantation* (vol. 57), No. 2, pp. 211-7.
87. Schneeberger, H.; Schleibner, S.; Illner, W. D., et al. (1993): The impact of free radical-mediated reperfusion injury on acute and chronic rejection events following cadaveric renal transplantation, *Clin Transpl*, pp. 219-32.

88. Land, W. (1994): The potential impact of the reperfusion injury on acute and chronic rejection events following organ transplantation, *Transplant Proc* (vol. 26), No. 6, pp. 3169-71.
89. Schneeberger, H.; Abendroth, D.; Illner, W. D., et al. (1992): Beneficial long-term results in kidney transplantation following prevention from reperfusion injury by treatment with rh-SOD at surgery: Report of a randomized double blind study., XIV Int. Congress of the Transplantation Society, Paris, France, p. 343.
90. Land, W.; Schneeberger, H; Schleibner, S., et al. (1995): Ablation of free radicals-mediated reperfusion injury of allografts by rh-SOD reduces incidences of acute and chronic rejection events., *Prog Appl Microcirc* (vol. 21), p. 109.
91. Land, W.; Schneeberger, H; Schleibner, S., et al. (1993): Influence of perioperatively administered superoxide dismutase (rh-SOD) on acute and chronic rejection events in kidney-transplanted ciclosporin-treated patients., *Eur Surg Res* (vol. 25), p. 417.
92. Land, W and Messmer, K (1996): The Impact of Ischemia/Reperfusion Injury on Specific and Non-Specific, Early and Late Chronic Events After Organ Transplantation, *Transplantation Reviews* (vol. 10), No. 2, pp. 108-127.
93. Tawadrous, M. N.; Zhang, X. Y. and Wheatley, A. M. (2001): Microvascular origin of laser-Doppler flux signal from the surface of normal and injured liver of the rat, *Microvasc Res* (vol. 62), No. 3, pp. 355-65.
94. Ohdan, H.; Suzuki, S.; Amemiya, H., et al. (1994): Laser-Doppler flowmetry for serial monitoring of graft blood flow after liver transplantation in rats, *Transplantation* (vol. 58), No. 8, pp. 969-71.
95. Wheatley, A. M. and Zhao, D. (1993): Intraoperative assessment by laser Doppler flowmetry of hepatic perfusion during orthotopic liver transplantation in the rat, *Transplantation* (vol. 56), No. 6, pp. 1315-8.
96. Arvidsson D; Svensson H and U., Haglund (1988): Laser-Doppler flowmetry for estimating liver blood flow., *Am J Physiol* (vol. 254(4 Pt 1)), No. Apr, pp. G471-6.
97. Seifalian, AM; Chidambaram, V; Rolles, K, et al. (1998): In vivo demonstration of impaired microcirculation in steatotic human liver grafts, *Liver Transpl Surg* (vol. 4), No. 1, pp. 71-77.
98. Seifalian, A. M.; Mallet, S. V.; Rolles, K., et al. (1997): Hepatic microcirculation during human orthotopic liver transplantation, *Br J Surg* (vol. 84), No. 10, pp. 1391-5.

99. Mathie, RT (1986): Hepatic blood flow measurement with inert gas clearance, *J Surg Res* (vol. 41), No. 1, pp. 92-110.
100. Vollmar, Brigitte and Menger, M. D. (1998): The use of intravital microscopy in surgical research, *Langenbeck's Arch Surg* (vol. 383), pp. 282-285.
101. Post, S; Rentsch, M; Palma, P, et al. (1993): Assessment of microhemodynamics after liver transplantation by in vivo microscopy in the rat, *Transplant Proc* (vol. 25), No. 4, pp. 2597-2598.
102. Menger, MD; Marzi, I and Messmer, K (1991): In vivo fluorescence microscopy for quantitative analysis of the hepatic microcirculation in hamsters and rats, *Eur Surg Res* (vol. 23), No. 3-4, pp. 158-169.
103. MacPhee, PJ; Schmidt, EE and Groom, AC (1995): Intermittence of blood flow in liver sinusoids, studied by high-resolution in vivo microscopy, *Am J Physiol* (vol. 269), No. 5 Pt 1, pp. G692-698.
104. Post, S.; Palma, P.; Rentsch, M., et al. (1993): Hepatic reperfusion injury following cold ischemia in the rat: potentials of quantitative analysis by in vivo microscopy., *Prog Appl Microcirc* (vol. 19), pp. 152-166.
105. Marzi, I; Takei, J.; Knee, J., et al. (1990): Assessment of Reperfusion Injury by Intravital Fluorescence Microscopy Following Liver Transplantation in the Rat, *Transplantation Proceedings* (vol. 22), No. No. 4, pp. 2004-2005.
106. Uhlmann, S; Uhlmann, D and Spiegel, HU (1999): Evaluation of hepatic microcirculation by in vivo microscopy, *J Invest Surg* (vol. 12), No. 4, pp. 179-193.
107. Wolf, S; Arend, O; Schulte, K, et al. (1994): Quantification of retinal capillary density and flow velocity in patients with essential hypertension, *Hypertension* (vol. 23), No. 4, pp. 464-467.
108. Fenton, B. M.; Zweifach, B. W. and Worthen, D. M. (1979): Quantitative morphometry of conjunctival microcirculation in diabetes mellitus, *Microvasc Res* (vol. 18), No. 2, pp. 153-66.
109. Rajadhyaksha, M; Grossman, M; Esterowitz, D, et al. (1995): In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast, *J Invest Dermatol* (vol. 104), No. 6, pp. 946-952.
110. Groner, W; Winkelman, JW; Harris, AG, et al. (1999): Orthogonal polarization spectral imaging: a new method for study of the microcirculation, *Nat Med* (vol. 5), No. 10, pp. 1209-1212.

111. Mathura, KR. and Ince, C. (2000): First clinical use of orthogonal polarization spectral imaging. In: Messmer K ed. Orthogonal Polarization Spectral Imaging., Basel: Karger, pp. 94-101.
112. Mathura, KR.; Vollebregt, KC.; Boer, K., et al. (2001): Comparison of OPS imaging and conventional capillary microscopy to study the human microcirculation., J Appl Physiol (vol. 91(1)), No. Jul, pp. 74-8.
113. Harris AG; Sinitsina I and K., Messmer (2000): The Cytoscan Model E-II, a new reflectance microscope for intravital microscopy: comparison with the standard fluorescence method., J Vasc Res (vol. 37(6)), No. Nov-Dec, pp. 469-76.
114. Harris AG; Sinitsina I and K., Messmer (2002): Validation of OPS imaging for microvascular measurements during isovolumic hemodilution and low hematocrits., Am J Physiol Heart Circ Physiol (vol. 282(4)), No. Apr, pp. H1502-9.
115. Langer, S; Harris, AG; Biberthaler, P, et al. (2001): Orthogonal polarization spectral imaging as a tool for the assessment of hepatic microcirculation: a validation study, Transplantation (vol. 71), No. 9, pp. 1249-1256.
116. Uhl, E.; Lehmborg, J.; Steiger, HJ., et al. (2000): Intraoperative observation of human cerebral microcirculation. In: Messmer K ed. Orthogonal Polarization Spectral Imaging., Basel: Karger, pp. 72-81.
117. Uhl, E.; Lehmborg, J.; Steiger, H. J., et al. (2003): Intraoperative detection of early microvasospasm in patients with subarachnoid hemorrhage by using orthogonal polarization spectral imaging, Neurosurgery (vol. 52), No. 6, pp. 1307-15; discussion 1315-7.
118. Genzel-Boroviczeny O; Strotgen J; Harris AG, et al. (2002): Orthogonal polarization spectral imaging (OPS): a novel method to measure the microcirculation in term and preterm infants transcutaneously., Pediatr Res (vol. 51(3)), No. Mar, pp. 386-91.
119. Christ, F.; Genzel-Boroviczeny, O. and Schaudig, S. (2000): Monitoring of the microcirculation in cardiac surgery and neonates using orthogonal polarization spectral imaging . In: Messmer K ed. Orthogonal Polarization Spectral Imaging., Basel: Karger, pp. 82-93.
120. Klitzman, B.; Braun, RD.; Lockhart, AC., et al. (2000): Wound-induced angiogenesis: a clinical model. In: Messmer K ed. Orthogonal Polarization Spectral Imaging., Basel: Karger, pp. 110-114.

121. Langer, S.; Hatz, R.; Harris, A. G., et al. (2001): Assessing the microcirculation in a burn wound by use of OPS imaging, *Eur J Med Res* (vol. 6), No. 6, pp. 231-4.
122. De Baker, D.; Creteur, J. and Vincent, JL. (2000): Use of orthogonal polarization spectral imaging in intensive care. In: Messmer K ed. *Orthogonal Polarization Spectral Imaging.*, Basel: Karger, pp. 104-109.
123. Schaser, K. D.; Settmacher, U.; Puhl, G., et al. (2003): Noninvasive analysis of conjunctival microcirculation during carotid artery surgery reveals microvascular evidence of collateral compensation and stenosis-dependent adaptation, *J Vasc Surg* (vol. 37), No. 4, pp. 789-97.
124. Haberal, M; Bilgin, N; Buyukpamukcu, N, et al. (1993): Living donor hepatectomy in partial liver transplantation: surgical technique and results., *Transplant Proc.* (vol. 25 Apr.), No. 2, pp. 1899-901.
125. Wachs, ME; Bak, TE; Karrer, FM, et al. (1998): Adult living donor liver transplantation using a right hepatic lobe, *Transplantation* (vol. 27 Nov.), No. 66(10), pp. 1313-6.
126. Grewal, HP; Shokouh-Amiri, MH; Vera, S, et al. (2001): Surgical technique for right lobe adult living donor liver transplantation without venovenous bypass or portocaval shunting and with duct-to-duct biliary reconstruction., *Ann Surg.* (vol. 233 Apr.), No. 4, pp. 502-8.
127. Settmacher, U; Steinmuller, TH; Schmidt, SC, et al. (2003): Technique of bile duct reconstruction and management of biliary complications in right lobe living donor liver transplantation., *Clin Transplant* (vol. 17 Feb.), No. 1, pp. 37-42.
128. Marcos, A; Killackey, M; Orloff, MS, et al. (2003): Hepatic arterial reconstruction in 95 adult right lobe living donor liver transplants: evolution of anastomotic technique., *Liver Transpl.* (vol. 9 Jun.), No. 6, pp. 570-4.
129. STARZL, TE; MARCHIORO, TL; VONKAULLA, KN, et al. (1963): HOMOTRANSPLANTATION OF THE LIVER IN HUMANS., *Surg Gynecol Obstet.* (vol. 117 Dec), pp. 659-76.
130. Neuhaus, P and Platz, KP (1994): Liver transplantation: newer surgical approaches., *Liver transplantation: newer surgical approaches.* (vol. 8 Sep.), No. 3, pp. 481-93.
131. Seiler, CA (1999): The bile duct anastomosis in liver transplantation., *Dig Surg* (vol. 16), No. 2, pp. 102-6.

132. Neuhaus, P; Blumhardt, G; Bechstein, WO, et al. (1994): Technique and results of biliary reconstruction using side-to-side choledochocholedochostomy in 300 orthotopic liver transplants., *Ann Surg.* (vol. 219 Apr.), No. 4, pp. 426-34.
133. Vogel, Helmut (1999): *Gerthsen Physik* (vol. 20.Auflage), Springer Verlag Berlin Heidelberg.
134. Zeintl, H; Tompkins, WR; Messmer, K, et al. (1986): Static and dynamic video image analysis applied to clinical investigations, *Prog Appl Microcirc* (vol. 11), pp. 1-10.
135. Schmid-Schoenbein, GW; Zweifach, BW and Kovalcheck, S (1977): The application of stereological principles to morphometry of the microcirculation in different tissues, *Microvasc Res* (vol. 14), pp. 303-317.
136. Tyml, K and Budreau, CH (1988): Heterogeneity of microvascular responses to ischemia in skeletal muscle, *Int J Microcirc Clin Exp* (vol. 7), pp. 205-221.
137. Intaglietta, M; Silverman, NR and Tompkins, WR (1975): Capillary flow velocity measurements in vivo and in situ by television methods., *Microvasc Res.* (vol. 10 Sep.), No. 2, pp. 165-79.
138. Gross, JF and Aroesty, J (1972): Mathematical models of capillary flow. A critical review., *Biorheology* (vol. 9), pp. 225-264.
139. Tisone, G.; Manzia, T. M.; Zazza, S., et al. (2004): Marginal donors in liver transplantation, *Transplant Proc* (vol. 36), No. 3, pp. 525-6.
140. Urata, Koichi; Nguyen, Bich; Brault, Antoine, et al. (1998): Decreased Survival in Rat Liver Transplantation With Extended Cold Preservation: Role of Portal Vein Clamping Time, *Hepatology* (vol. 28), No. No.2, pp. 366-373.
141. Urata, K.; Brault, A.; Rocheleau, B., et al. (2000): Role of Kupffer cells in the survival after rat liver transplantation with long portal vein clamping times, *Transpl Int* (vol. 13), No. 6, pp. 420-7.
142. Marzi, I ; Knee, J; Menger, MD, et al. (1991): Hepatic microcirculatory disturbances due to portal vein clamping in the orthotopic rat liver transplantation model, *Transplantation* (vol. 52), No. 3, pp. 432-436.
143. Marzi, I; Walcher, F; Menger, M, et al. (1991): Microcirculatory disturbances and leucocyte adherence in transplanted livers after cold storage in Euro-Collins, UW and HTK solutions, *Transpl Int* (vol. 4), No. 1, pp. 45-50.

144. As van, AB; Lotz, Z; Tyler, M, et al. (2001): Effect of early arterialization of the porcine liver allograft on reperfusion injury, hepatocellular injury, and endothelial cell dysfunction, *Liver Transpl* (vol. 7), No. 1, pp. 32-37.
145. Harris, AG; Leiderer, R; Peer, F, et al. (1996): Skeletal muscle microvascular and tissue injury after varying durations of ischemia, *Am J Physiol* (vol. 271), No. 6 Pt 2, pp. H2388-2398.
146. Lauth WW; Greenway CV; Legare DJ, et al. (1986): Localization of intrahepatic portal vascular resistance., *Am J Physiol* (vol. 251(3 Pt 1)), No. Sep, pp. G375-81.
147. Neuhaus, P. and Blumhardt, G. (1993): Extracorporeal liver perfusion: applications of an improved model for experimental studies of the liver, *Int J Artif Organs* (vol. 16), No. 10, pp. 729-39.
148. Richter, S.; Vollmar, B.; Mucke, I., et al. (2001): Hepatic arteriolo-portal venular shunting guarantees maintenance of nutritional microvascular supply in hepatic arterial buffer response of rat livers, *J Physiol* (vol. 531), No. Pt 1, pp. 193-201.
149. Bauer, M.; Marzi, I.; Ziegenfuss, T., et al. (1993): Comparative effects of crystalloid and small volume hypertonic hyperoncotic fluid resuscitation on hepatic microcirculation after hemorrhagic shock, *Circ Shock* (vol. 40), No. 3, pp. 187-93.
150. Ferguson, D.; McDonagh, P. F.; Biewer, J., et al. (1993): Spatial relationship between leukocyte accumulation and microvascular injury during reperfusion following hepatic ischemia, *Int J Microcirc Clin Exp* (vol. 12), No. 1, pp. 45-60.
151. Muller, J. M.; Vollmar, B. and Menger, M. D. (1997): Pentoxifylline reduces venular leukocyte adherence ("reflow paradox") but not microvascular "no reflow" in hepatic ischemia/reperfusion, *J Surg Res* (vol. 71), No. 1, pp. 1-6.
152. Vollmar, B.; Glasz, J.; Post, S., et al. (1996): Role of microcirculatory derangements in manifestation of portal triad cross-clamping-induced hepatic reperfusion injury, *J Surg Res* (vol. 60), No. 1, pp. 49-54.
153. Vollmar, B.; Glasz, J.; Leiderer, R., et al. (1994): Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion, *Am J Pathol* (vol. 145), No. 6, pp. 1421-31.
154. Biberthaler, P.; Luchting, B.; Massberg, S., et al. (2001): Ischemia at 4 degrees C: a novel mouse model to investigate the effect of hypothermia on postischemic hepatic microcirculatory injury, *Res Exp Med (Berl)* (vol. 200), No. 2, pp. 93-105.



155. Kondo, T.; Todoroki, T.; Hirano, T., et al. (1998): Impact of ischemia-reperfusion injury on dimensional changes of hepatic microvessels, *Res Exp Med (Berl)* (vol. 198), No. 2, pp. 63-72.
156. Zhang, X. Y.; Francis, R. J.; Sun Ck, C. K., et al. (2002): Endothelin receptor A blockade ameliorates hypothermic ischemia-reperfusion-related microhemodynamic disturbances during liver transplantation in the rat, *J Surg Res* (vol. 102), No. 2, pp. 63-70.
157. Post, S.; Palma, P.; Rentsch, M., et al. (1993): Differential impact of Carolina rinse and University of Wisconsin solutions on microcirculation, leukocyte adhesion, Kupffer cell activity and biliary excretion after liver transplantation, *Hepatology* (vol. 18), No. 6, pp. 1490-7.
158. Gross, JF and Aroesty, J (1972): Mathematical models of capillary flow: a critical review, *Biorheology* (vol. 9), No. 4, pp. 225-264.
159. Sherman, I. A.; Dlugosz, J. A.; Barker, F., et al. (1996): Dynamics of arterial and portal venous flow interactions in perfused rat liver: an intravital microscopic study, *Am J Physiol* (vol. 271), No. 1 Pt 1, pp. G201-10.
160. Yokoyama, Y.; Baveja, R.; Sonin, N., et al. (2000): Altered endothelin receptor subtype expression in hepatic injury after ischemia/reperfusion, *Shock* (vol. 13), No. 1, pp. 72-8.
161. Post, S; Menger, MD; Rentsch, M, et al. (1992): The impact of arterialization on hepatic microcirculation and leukocyte accumulation after liver transplantation in the rat, *Transplantation* (vol. 54), No. 5, pp. 789-794.
162. Chaland, P.; Braillon, A.; Gaudin, C., et al. (1990): Orthotopic liver transplantation with hepatic artery anastomoses. Hemodynamics and response to hemorrhage in conscious rats, *Transplantation* (vol. 49), No. 4, pp. 675-8.
163. Rosen, H. R.; Martin, P.; Goss, J., et al. (1998): Significance of early aminotransferase elevation after liver transplantation, *Transplantation* (vol. 65), No. 1, pp. 68-72.
164. Ploeg, R. J.; D'Alessandro, A. M.; Knechtle, S. J., et al. (1993): Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation--a multivariate analysis, *Transplantation* (vol. 55), No. 4, pp. 807-13.
165. Glanemann, M and Langrehr, JM (2002): Clinical results after orthotopic liver transplantation dependent on ischemia/reperfusion injury., *TransplLinc* (vol. 2), pp. 58-66.

166. Furukawa, H.; Todo, S.; Imventarza, O., et al. (1991): Effect of cold ischemia time on the early outcome of human hepatic allografts preserved with UW solution, *Transplantation* (vol. 51), No. 5, pp. 1000-4.
167. Lange, R.; Erhard, J.; Rauen, U., et al. (1996): Determination of hepatocellular enzymes in effluent of human liver grafts for preoperative evaluation of transplant quality, *Transplantation* (vol. 62), No. 9, pp. 1255-9.
168. Klar, E.; Angelescu, M.; Zapletal, C., et al. (2001): Prediction of primary graft failure by intraoperative quantification of liver perfusion, *Transplant Proc* (vol. 33), No. 1-2, pp. 1370-1.
169. Klar, E; Kraus, T; Bleyl, J, et al. (1999): Thermodiffusion for continuous quantification of hepatic microcirculation--validation and potential in liver transplantation, *Microvasc Res* (vol. 58), No. 2, pp. 156-166.
170. Klar, E.; Kraus, T.; Bleyl, J., et al. (1995): Thermodiffusion as a novel method for continuous monitoring of the hepatic microcirculation after liver transplantation, *Transplant Proc* (vol. 27), No. 5, pp. 2610-2.
171. Kawachi, S.; Shimazu, M.; Wakabayashi, G., et al. (1997): Efficacy of intraportal infusion of prostaglandin E1 to improve the hepatic blood flow and graft viability in porcine liver transplantation, *Transplantation* (vol. 64), No. 2, pp. 205-9.
172. Uhlmann, D.; Uhlmann, S.; Loffler, B. M., et al. (2001): Pharmacological regulation of postischemic sinusoidal diameters in rats--a new approach for reducing hepatic ischemia/reperfusion injury, *Clin Hemorheol Microcirc* (vol. 24), No. 4, pp. 233-46.
173. Rubin, L. J.; Badesch, D. B.; Barst, R. J., et al. (2002): Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension, *N Engl J Med* (vol. 346), No. 12, pp. 896-903.
174. Thompson, C. A. (2002): Bosentan enters market with risk management program, *Am J Health Syst Pharm* (vol. 59), No. 6, p. 506.
175. Dietrich, C. G.; Geier, A. and Lammert, F. (2002): Bosentan for pulmonary hypertension, *N Engl J Med* (vol. 347), No. 4, pp. 292-4; author reply 292-4.
176. Cheng, J. W. (2003): Bosentan, *Heart Dis* (vol. 5), No. 2, pp. 161-9.
177. (2003): Bosentan for pulmonary arterial hypertension, *Drug Ther Bull* (vol. 41), No. 9, pp. 70-2.
178. Galie, N.; Manes, A. and Branzi, A. (2004): The endothelin system in pulmonary arterial hypertension, *Cardiovasc Res* (vol. 61), No. 2, pp. 227-37.

179. Clift, P. F.; Townend, J. N.; Bramhall, S., et al. (2004): Successful treatment of severe portopulmonary hypertension after liver transplantation by bosentan, *Transplantation* (vol. 77), No. 11, pp. 1774-5.
180. Cohen, H.; Chahine, C.; Hui, A., et al. (2004): Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension, *Am J Health Syst Pharm* (vol. 61), No. 11, pp. 1107-19.
181. Scommotau, S.; Uhlmann, D.; Loffler, B. M., et al. (1999): Involvement of endothelin/nitric oxide balance in hepatic ischemia/reperfusion injury, *Langenbecks Arch Surg* (vol. 384), No. 1, pp. 65-70.
182. Ekataksin, W. and Kaneda, K. (1999): Liver microvascular architecture: an insight into the pathophysiology of portal hypertension, *Semin Liver Dis* (vol. 19), No. 4, pp. 359-82.
183. Rappaport, A. M. and Schneiderman, J. H. (1976): The function of the hepatic artery, *Rev Physiol Biochem Pharmacol* (vol. 76), pp. 129-75.
184. Watanabe, Y; Puschel, GP; Gardemann, A, et al. (1994): Presinusoidal and proximal intrasinusoidal confluence of hepatic artery and portal vein in rat liver: functional evidence by orthograde and retrograde bivascular perfusion., *Hepatology* (vol. 19), pp. 1198-1207.
185. Yamamoto, K.; Sherman, I.; Phillips, M. J., et al. (1985): Three-dimensional observations of the hepatic arterial terminations in rat, hamster and human liver by scanning electron microscopy of microvascular casts, *Hepatology* (vol. 5), No. 3, pp. 452-6.
186. Chazouilleres, O.; Calmus, Y.; Vaubourdolle, M., et al. (1993): Preservation-induced liver injury. Clinical aspects, mechanisms and therapeutic approaches, *J Hepatol* (vol. 18), No. 1, pp. 123-34.
187. Post, S; Rentsch, M.; Gonzalez, A.P., et al. (1995): Importance of the First Minutes of Reperfusion in Hepatic Preservation Injury, *Transplantation Proceedings* (vol. 27), No. No 1, pp. 727-728.
188. Reck, T; Steinbauer, F; Steinbauer, M, et al. (1996): Impact of arterialization on hepatic oxygen supply, tissue energy phosphates, and outcome after liver transplantation in the rat, *Transplantation* (vol. 62), No. 5, pp. 582-587.
189. Campra, J.L. and Reynolds, T.B. (1988): The hepatic circulation. In Arias IM, Jakoby WB, Popper H, et al., eds. *The liver: biology and pathophysiology*. New York: Raven, pp 911.

190. Moench, C.; Moench, K.; Lohse, A. W., et al. (2003): Prevention of ischemic-type biliary lesions by arterial back-table pressure perfusion, *Liver Transpl* (vol. 9), No. 3, pp. 285-9.
191. Muller, MJ; Vollmar, B; Friedl, HP, et al. (1996): Xanthine oxidase and superoxide radicals in portal triad crossclamping-induced microvascular reperfusion injury of the liver, *Free Radic Biol Med* (vol. 21), No. 2, pp. 189-197.
192. Jaeschke, H; Farhood, A; Bautista, AP, et al. (1993): Functional inactivation of neutrophils with a Mac-1 (CD11b/CD18) monoclonal antibody protects against ischemia-reperfusion injury in rat liver., *Hepatology* (vol. May;17(5)), pp. 915-23.
193. Nakano, H; Kuzume, M; Namatame, K, et al. (1995): Efficacy of intraportal injection of anti-ICAM-1 monoclonal antibody against liver cell injury following warm ischemia in the rat, *Am J Surg* (vol. 170), No. 1, pp. 64-66.
194. Marubayashi, S; Oshiro, Y; Maeda, T, et al. (1997): Protective effect of monoclonal antibodies to adhesion molecules on rat liver ischemia-reperfusion injury, *Surgery* (vol. 122), No. 1, pp. 45-52.
195. Oshiro, Y; Marubayashi, S; Maeda, T, et al. (1995): Contribution of neutrophils and effect of monoclonal antibodies to adhesion molecules on ischemia and reperfusion injury in rat livers, *Transplant Proc* (vol. 27), No. 1, pp. 743-744.
196. Iwata, K; Shimazu, M; Wakabayashi, G, et al. (1999): Intraportal perfusion of prostaglandin E1 attenuates hepatic postischaemic microcirculatory impairments in rats, *J Gastroenterol Hepatol* (vol. 14), No. 7, pp. 634-641.
197. Spiegel, HU; Uhlmann, D and Uhlmann, S (2000): Controlled vasoregulation of postischemic liver microcirculation--a therapeutic approach, *J Invest Surg* (vol. 13), No. 5, pp. 273-278.
198. Gao, W.; Currin, R. J.; Lemasters, J. J., et al. (1992): Reperfusion rather than storage injury predominates following long-term (48 h) cold storage of grafts in UW solution: studies with Carolina Rinse in transplanted rat liver, *Transpl Int* (vol. 5 Suppl 1), pp. S329-35.
199. Sawaya, DE Jr; Brown, M; Minardi, A, et al. (1999): The role of ischemic preconditioning in the recruitment of rolling and adherent leukocytes in hepatic venules after ischemia/reperfusion, *J Surg Res* (vol. 85), No. 1, pp. 163-170.

## **15 Publikationsverzeichnis**

Gero Puhl, Klaus-D. Schaser, Daniel Pust, Katrin Köhler, Brigitte Vollmar, Michael D. Menger, Peter Neuhaus, Utz Settmacher: The delay of rearterialization after initial portal reperfusion in living donor liver transplantation significantly determines the development of microvascular graft dysfunction. *Journal of Hepatology*, 2004, Vol 41, pages 299-306.

Gero Puhl, Klaus-D. Schaser, Daniel Pust, Katrin Köhler, Brigitte Vollmar, Michael D. Menger, Peter Neuhaus, Utz Settmacher: Initial Hepatic Microcirculation Correlates With Early Graft Function in Human Orthotopic Liver Transplantation. *Liver Transplantation*, 2005, Vol 11, No. 5(May) pages: 555-563.

## **16 Eidesstattliche Erklärung**

Ich, Gerd Daniel Pust, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die Analyse der hepatischen Mikrozirkulation nach Ischämie und Reperfusion während der humanen Lebertransplantation“ 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.

Daniel Pust

## **17 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

## **18 Danksagung**

Ich danke recht herzlich Prof. Dr. med. Peter Neuhaus und Prof. Dr. med. Utz Settmacher für die Projektunterstützung und die wissenschaftliche Betreuung der vorliegenden Promotion.

Im Besonderen möchte ich mich bei PD Dr. med. Gero Puhl und PD Dr. med. Klaus-Dieter Schaser für die inhaltliche Betreuung und die konzeptionelle Erarbeitung der vorliegenden Promotion sowie für die endlosen Stunden im Operationssaal zur Erhebung der Messdaten bedanken.

Bei meiner Promotionskollegin Katrin Köhler möchte ich mich recht herzlich für die gute Freundschaft, Zusammenarbeit und Unterstützung bei der Arbeit im Labor bedanken.

Bei meinen Eltern Gabriele und Dr. Gerd-Jürgen Pust sowie meiner Schwester Marianne Steinhagen und Familie, und bei meinen Freunden möchte ich mich für die vielseitige Unterstützung während meiner Promotionszeit herzlich bedanken.