

Aus der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie,  
Charité Campus Virchow-Klinikum, Humboldt-Universität zu Berlin,

Direktor: Prof. Dr. Peter Neuhaus



# **Vergleich verschiedener Konservierungslösungen in der Langzeitperfusion der Leber anhand klinisch-chemischer Parameter**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

am Virchow-Klinikum

Medizinische Fakultät Charité

der Humboldt-Universität zu Berlin

vorgelegt von Wassilios Meißner aus Berlin

Referent: Professor Dr. P. Neuhaus

Koreferent : Professor Dr. S. Rosewicz

Gedruckt mit Genehmigung des Virchow-Klinikums, Medizinische Fakultät Charité der  
Humboldt-Universität zu Berlin.

Eingereicht am: 02.03.1999

Promoviert am: 05.11.1999

**key words:** liver transplantation-organ preservation-preservation solution-continuous perfusion

**Schlagwörter:** Lebertransplantation-Organkonservierung- Konservierungslösung- kontinuierliche Perfusion

## **Abstract**

### COMPARISON OF DIFFERENT PRESERVATION SOLUTIONS FOR LONG-TERM CONTINUOUS PERFUSION OF THE LIVER

The introduction of the University of Wisconsin (UW) solution for liver preservation in 1988 allowed for the first time the extension of the safe cold storage time up to 24 hours. Nevertheless, severe organ dysfunction of the liver may still occur postoperatively, depending on the quality and the duration of organ preservation. Therefore, improved organ preservation should make possible a higher rate of immediate organ function after transplantation and the extension of the safe cold storage time avoiding any wastage of organs due to liver dysfunction.

Our study aimed to investigate whether continuous perfusion of pig livers in comparison to simple cold storage with the UW solution results in improved preservation. Furthermore, we examined if our extracorporeal perfusion system, modified by P. Neuhaus, would be suitable to test new preservation solutions before clinical use allowing the establishment of a new in-vitro model. Thus, livers were perfused continuously using the Free University (FU) solution and the Histidine Tryptophan Ketoglutarate (HTK) solution respectively and preservation was compared to the UW solution.

The preservation injury was measured in-vitro during a subsequent warm perfusion of the organ with pig blood. Differences between continuous perfusion and simple cold storage were significant. Lower concentrations of the transaminases in the UW group were associated with a higher bile secretion, a lower arterial pressure and a lower increase of the liver weight. Results obtained for the FU group suggest a comparable quality of preservation compared to livers continuously perfused with UW solution, whereas the extent of the preservation injury was significantly higher in the HTK group.

In conclusion, in our experimental design continuous perfusion with UW solution seems to be a better method for organ preservation suggesting that the clinical use of this technique

may be beneficial. Large experience with continuous perfusion for human renal procurement has proven its technical feasibility.

### **Zusammenfassung**

Seit der Einführung der University of Wisconsin (UW)-Lösung ist für die humane Lebertransplantation eine sichere Kaltkonservierung von 24 Stunden möglich. Ungeachtet dieser Verbesserung kann es postoperativ weiterhin zu schweren Leberfunktionsstörungen bis hin zum Transplantatversagen kommen. Die Leberfunktionsstörungen stehen in engem Zusammenhang mit der Qualität und der Dauer der Organkonservierung. Eine verbesserte Organkonservierung sollte deshalb eine höhere Funktionsrate nach Implantation und eine Verlängerung der sicheren Konservierungsdauer ermöglichen.

Mit der Untersuchung sollte die Frage beantwortet werden, ob eine kontinuierliche Perfusion von Schweinelebern mit der UW-Lösung anstelle einer Standardkaltlagerung in UW-Lösung einen geringeren Konservierungsschaden nach sich zieht. Weiterhin sollte mit dem Ziel der Etablierung eines in-vitro-Modells geklärt werden, ob mit dem modifizierten Modell der extrakorporalen Perfusion nach P. Neuhaus neue Konservierungslösungen unter Einsparung von Versuchstieren getestet werden können. Vor diesem Hintergrund wurde in zwei weiteren Versuchsgruppen die kontinuierliche Kaltperfusion mit der Freien Universität (FU)- bzw. der HTK-Lösung durchgeführt.

Der Konservierungsschaden der Leber wurde während der sich an die Kaltkonservierung anschließenden Warmperfusion mit Schweineblut in-vitro quantifiziert. Die Unterschiede zwischen der kontinuierlichen Perfusion und der Kaltlagerung waren signifikant, wobei eine geringere Serumkonzentration der Transaminasen in der UW-Gruppe mit einer höheren Gallesekretion, einem geringeren arteriellen Widerstand und einer geringeren Zunahme des Lebergewichts einherging. Die Ergebnisse der FU-Gruppe lassen im Vergleich mit der kontinuierlichen Perfusion mit UW-Lösung eine ähnliche Konservierungsgüte annehmen, während der Konservierungsschaden in der HTK-Gruppe signifikant stärker ausgeprägt war.

Zusammenfassend erwies sich die kontinuierliche Kaltperfusion mit der UW-Lösung als das besser geeignete Konservierungsverfahren, nahelegend, daß ein Einsatz eine sinnvolle Alternative zur Standardkaltlagerung sein könnte. Langjährige Erfahrungen mit der kontinuierlichen Perfusion bei der Nierentransplantation beim Menschen zeigen, daß im klinischen Alltag eine kontinuierliche Organperfusion technisch möglich ist.

# Vergleich verschiedener Konservierungslösungen in der Langzeitperfusion der Leber anhand klinisch-chemischer Parameter

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1	Entwicklung der Organtransplantation	1
1.1.1	Entwicklung der Lebertransplantation	2
1.2	Organkonservierung	3
1.2.1	Der hepatische Konservierungsschaden	4
1.2.2	Konservierungslösungen	6
1.2.3	Problem der initialen Nichtfunktion	8
1.3	Versuchsmodell	9
1.4	Fragestellung und Zielsetzung	10
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODE</b>	<b>12</b>
2.1	Versuchstiere	12
2.2	Versuchsablauf	12
2.3	Organentnahme	13
2.4	Aufbau der Perfusionsapparatur	17
2.4.1	Perfusionskammer	17
2.4.2	Pumpen und Pumpenregulation	19
2.4.3	Oxygenator	20
2.4.4	Dialysator	20
2.4.5	Temperaturregulation	21
2.5	Kaltperfusion	21
2.6	Kaltlagerung	22
2.7	Warmperfusion	22

<b>2.8</b>	<b>Versuchsgruppen.....</b>	<b>23</b>
2.8.1	Kaltperfusion mit der modifizierten Maschinen-UW-Lösung .....	24
2.8.2	Kaltperfusion mit HTK-Lösung .....	25
2.8.3	Kaltperfusion mit Gerlach B-FU-Lösung.....	26
2.8.4	Kaltlagerung mit UW .....	27
<b>2.9</b>	<b>Parameter .....</b>	<b>27</b>
2.9.1	Klinisch-chemische Parameter .....	27
2.9.2	Gallesekretion.....	29
2.9.3	Gefäßwiderstand der Arteria hepatica communis .....	29
2.9.4	Lebergewicht postoperativ und nach Warmperfusion.....	30
2.9.5	Statistische Verfahren.....	30
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Messung der klinisch-chemischen Parameter.....</b>	<b>31</b>
<b>3.2</b>	<b>Weitere Ergebnisse.....</b>	<b>44</b>
3.2.1	Messung der Gallesekretion .....	44
3.2.2	Messung des Gefäßwiderstandes der Arteria hepatica communis .....	46
3.2.3	Messung des Lebergewichts.....	47
<b>4</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>49</b>
<b>4.1</b>	<b>Wertigkeit der klinisch-chemischen Parameter .....</b>	<b>50</b>
<b>4.2</b>	<b>Weitere Parameter .....</b>	<b>54</b>
<b>4.3</b>	<b>Eingesetzte Konservierungslösungen .....</b>	<b>57</b>
<b>4.4</b>	<b>Möglichkeiten und Grenzen des Versuchsmodells.....</b>	<b>59</b>
<b>4.5</b>	<b>Abschließende Beurteilung und Ausblick .....</b>	<b>61</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>63</b>

<b>6 ANHANG .....</b>	<b>65</b>
<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>65</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>78</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>79</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>81</b>
<b>Lebenslauf .....</b>	<b>82</b>
<b>Danksagung.....</b>	<b>83</b>
<b>Selbständigkeitserklärung .....</b>	<b>84</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Entwicklung der Organtransplantation

Mit der Etablierung der Transplantation für solide parenchymatöse Organe wie Leber, Herz, Lunge und Niere ist eine operative Therapie vieler vormals infauster Erkrankungen möglich. Ende des letzten Jahrhunderts reimplantierten Carrel und Guthrie Nieren en bloc in Katzen mit einer Überlebenszeit von drei Wochen. Carrel erhielt für diese Arbeit 1912 den Nobelpreis. Die Herzverpflanzung wurde seit Ende der 40er Jahre experimentell betrieben. Die erste humane Transplantation wurde 1964 durchgeführt (Hardy 1964). Hierbei versagte das transplantierte Schimpansenherz bereits nach einigen Stunden und es dauerte bis 1967 ehe Christiaan Barnard in Südafrika die erste erfolgreiche Herztransplantation am Menschen durchführte. Die erste Lungentransplantation führten Hardy und Webb 1963 durch (Hardy 1963). Der Patient verstarb nach drei Wochen an einem akuten Nierenversagen. Die Transplantation anderer Organe, wie z.B. Pankreas und Dünndarm, hat bisher kaum Bedeutung erlangt. In den 60er Jahren beschrittene Wege der utero-ovariellen Transplantation wurden schon bald verlassen.

Die ersten tierexperimentellen Arbeiten mit dem Ziel einer Lebertransplantation begannen Ende der 50er Jahre mit Welch und Cannon (Cannon 1965, Welch 1955). Die erste Lebertransplantation gelang Starzl 1963 in Denver, Colorado an einem dreijährigen Kind mit Gallengangsatresie (Starzl 1963). 1967 operierte Starzl erfolgreich ein Kind, das vierhundert Tage überlebte. Ein Jahr später wurde in Bonn von Gütgemann die erste Leber in Deutschland transplantiert.

Die Möglichkeiten der Immunsuppression waren bis zum Ende der 70er Jahre auf die Kombination von Azathioprin, Kortikosteroiden und Antilymphozytenglobulin beschränkt. Unterstützend wurde die Drainage des Ductus thoracicus eingesetzt. In der Regel überlebten dreißig Prozent der lebertransplantierten Patienten ein Jahr (Starzl 1981). Mit der klinischen Einführung von Cyclosporin A Anfang der 80er Jahre konnte die 1-Jahresüberlebensrate mehr als verdoppelt werden (Starzl 1985b). Als weiterer kritischer Faktor für den Erfolg von Lebertransplantationen erlangte nun die Konservierung des zu transplantierenden Organs zunehmende Bedeutung.



### **1.1.1 Entwicklung der Lebertransplantation**

Die Lebertransplantation hat sich dank der Fortschritte auf den Gebieten der Organkonservierung (Belzer 1988), der Immunsuppression (Starzl 1985b), der Verbesserung der chirurgischen Technik (Starzl 1985a) und der Verwendung des extrakorporalen veno-venösen Bypass während der anhepatischen Phase ohne gleichzeitige Antikoagulation (Denmark 1983) als therapeutische Methode etabliert. Im Jahre 1983 wurde anlässlich einer Consensus Development Conference in den USA festgehalten, daß die Lebertransplantation die experimentelle Phase verlassen habe und zu einer therapeutischen Option gereift sei (National Institute of Health 1984). Noch zu dieser Zeit war die Lebertransplantation die letzte therapeutische Option für Patienten mit einer Lebererkrankung im Endstadium, was die Langzeitprognose aufgrund der präoperativen Morbidität schlechter ausfallen ließ als bei den meisten der heute transplantierten Patienten (Shaw 1989). Die Entstehung vieler Transplantationszentren weltweit in den 80er Jahren und eine enorme Zunahme an transplantierten Lebern, beispielsweise in den USA von 184 im Jahre 1980 auf 3056 im Jahre 1992, sind Zeichen der voranschreitenden Entwicklung (Wood 1994). Organisationen wie Eurotransplant, die über nationale Grenzen hinaus agieren, haben sich etablieren können, um möglichst effizient den Organaustausch zwischen mehreren Ländern in Europa über größere Entfernungen zu organisieren. Dieser Verbund setzt sich aus den Ländern Niederlande, Belgien, Luxemburg, Österreich und Deutschland zusammen. Von historischer Bedeutung für die Gründung der Organisation war die Frage nach der Notwendigkeit einer HLA-Kompatibilität beziehungsweise Inkompatibilität zwischen Spender und Empfänger auf das zu transplantierte Organ. Im Jahre 1996 wurden im Eurotransplant-Bereich 934 Lebern transplantiert (Eurotransplant International Foundation 1997).

Die orthotope Lebertransplantation ist somit zu einer therapeutischen Alternative gereift. Bei konstanten Spenderzahlen warten aber immer mehr potentielle Empfänger auf ein Organ, weshalb der Verteilung der vorhandenen Organe nach der größten Erfolgswahrscheinlichkeit eine große Bedeutung zukommt. Um der zunehmenden Diskrepanz zwischen der Anzahl der Spender und Empfänger zu begegnen, wurden in den letzten Jahren die Spenderkriterien erweitert. Nur dank der dadurch zusätzlich vorhandenen Organspender konnte eine noch größere Diskrepanz zwischen Organbedarf und Organangebot verhindert werden (Alexander 1991).

## 1.2 Organkonservierung

Einen großen Anteil an den erzielten Fortschritten in der Lebertransplantation hat die verbesserte Konservierungstechnik. Auch wenn man schon lange wußte, daß Hypothermie den ischämischen Zellschaden durch Reduktion des Zellmetabolismus vermindert (Sicular 1961), dauerte es mehrere Jahre, bevor sich diese Form der Organkonservierung etablierte. In der klinischen Anwendung bedient man sich seit 1963 der von Marchioro et al. zuerst beschriebenen in-situ Abkühlung vor der Organentnahme (Marchioro 1963). Von 1976 an wurde die Eurocollins-Konservierungslösung zur in-situ Abkühlung der Leber am Ende der Spenderhepatektomie und zur anschließenden Kaltlagerung eingesetzt. Es war nun möglich, Organe zwischen nah gelegenen Städten auszutauschen, da die maximale sichere kalte Ischämiezeit auf sechs bis acht Stunden ausgedehnt werden konnte. Dies erforderte jedoch weiterhin den Beginn der Empfängeroperation vor Ankunft des Spenderorgans mit der Konsequenz, gegebenenfalls die Empfängeroperation bei unbrauchbarer Spenderleber abbrechen.

Die Einführung der Belzer-University of Wisconsin (UW)-Lösung im Jahre 1988 zur Kaltlagerung des Organs zwischen Entnahme und Verpflanzung der Leber war ein wichtiger Schritt in der Geschichte der Lebertransplantation (Belzer 1988). Mit der Lösung können verschiedene Organe wie Pankreas, Nieren, Herz und Leber gleichermaßen konserviert werden, was die Koordinierung zwischen den beteiligten chirurgischen Teams bei der Multiorganentnahme vereinfachte (Hoffman 1988, Makowka 1989, Ploeg 1988, Wahlberg 1987). Einige Transplantationszentren setzen die Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat (HTK)-Lösung klinisch zur Kaltlagerung ein. Im Jahre 1990 wurde das erste Mal über den klinischen Einsatz bei 14 Lebertransplantationen berichtet (Gubernatis 1990).

Durch die Verlängerung der sicheren kalten Konservierungszeit steht mehr Zeit zur Verfügung, den Empfänger optimal auf die Transplantation vorzubereiten. Die Empfängeroperation kann mit ausgeruhtem Personal semielektiv durchgeführt werden (Strasberg 1994). Weiterhin wäre eine bessere immunologische Auswahl des Empfängers mittels prospektivem Crossmatch und HLA-Typisierung möglich, obwohl eine HLA-Inkompatibilität bei der Lebertransplantation nach bisherigen Erfahrungen keinen Einfluß auf das Überleben von Empfänger und Organ hat (Fujita 1997, Nikaiein 1994). Zusätzlich ist durch die Verlängerung der sicheren kalten Konservierungszeit die zeitaufwendige

Prozedur des Anpassens einer adulten Leber an die anatomischen Verhältnisse beim Kind erst möglich geworden (Colombani 1996). Die durch die neuen chirurgischen Techniken der reduced bzw. der split-liver entstandenen Möglichkeiten, wobei entweder die Leber an die Größenverhältnisse des Empfängers angepaßt wird oder eine Leber zwischen zwei Empfängern geteilt wird, müssen nicht auf Kinder begrenzt bleiben (De Ville de Goyet 1995). Die doppelte Anzahl an Organen wäre verfügbar, was bei immer länger werdenden Wartelisten und einer zunehmenden Mortalität der gelisteten Patienten wünschenswert wäre (Eurotransplant International Foundation 1997).

### **1.2.1 Der hepatische Konservierungsschaden**

Im Vordergrund aller Bemühungen, die Organkonservierung weiter zu verbessern, steht das Verständnis vom Konservierungsschaden, der entscheidend die initiale Nichtfunktion und auch eine mögliche spätere Abstoßungsreaktion des Transplantats beeinflusst (Howard 1990). Der Konservierungsschaden läßt sich in die vier Phasen Vorkonservierungs-, Kaltkonservierungs-, Erwärmungs- und Reperfusionsschaden einteilen (Erhard 1994). Ein Vorkonservierungsschaden kann durch leberschädigende Gewohnheiten des Spenders, durch eine traumatische Leberschädigung und durch eine präoperative hypotensive Kreislauftsituation entstehen. Für den Konservierungs-Reperfusionsschaden ist zum großen Teil die Hypothermie während der Kaltkonservierung verantwortlich. Die durch Hypothermie induzierten Effekte spielen sich an den Hepatozyten und an den nicht-parenchymatösen Zellen ab. Das Absenken der Organtemperatur reduziert die zelluläre metabolische Aktivität. Für die Niere konnte bereits Ende der fünfziger Jahre gezeigt werden, daß der Metabolismus weiter aktiv ist (Levy 1959). Dies bedeutet, daß es während der Hypothermie zu einem Substrat- und ATP-Verlust in den Hepatozyten kommt. Die ablaufenden Stoffwechselprozesse verbrauchen mehr Energie als synthetisiert werden kann (Harvey 1988). Eine Bereitstellung von intrazellulärer Energie in Form von ATP kann dann nur über anaerobe Glykolyse erfolgen, was zu einer intrazellulären Azidose führt. Gleichzeitig erfolgt in saurem Milieu die Konversion der Xanthinhydrogenase in ihre oxidierende Form, die Xanthinoxidase (Waud 1976). Die Hypothermie verlangsamt diese Reaktion zwar erheblich, während der Reperfusion mit oxygeniertem Blut kommt es aber zur Bildung von  $O_2$ -Radikalen mit Auslösung der Entzündungskaskade. Der Substratmangel beeinträchtigt die Funktion der Natrium/Kalium-ATPase. Folglich kommt es zu einer intrazellulären Natrium-Akkumulation mit Verlust des Ladungsgefälles.  $Cl^-$  strömt in die Zelle, während sich  $K^+$  aus der Zelle hinausbewegt. Diese

Ionenverschiebungen führen zu Wassereinstrom mit Ausbildung eines intrazellulären Ödems, dessen Ausmaß von der Hypothermiesensitivität der Natrium/Kalium-ATPase abhängig ist (Martin 1972).

Zusätzlich zu den oben beschriebenen Schädigungsmechanismen scheint es besonders an den Sinusendothelien weitere zu geben, die zum Teil perfusionsbedingt sind (Bell 1997). Dabei korreliert die Toleranz der kalten Ischämie mit dem Ausmaß der nach der Konservierung noch vorhandenen Adhäsion der Hepatozyten mit den Sinusendothelzellen (McKeown 1988). Die Hypoxie während der Ischämie spielt bei Anwesenheit von freigesetzter Glukose aus den Hepatozyten wegen der hohen glykolytischen Kapazität der Endothelzellen keine entscheidende Rolle. Vielmehr kommt es während der Reperfusion zur Adhärenz von Leuko- und Thrombozyten am Endothel, die wahrscheinlich durch Mediatoren der Kupfferschen Sternzellen vermittelt wird, wobei Sinusendothelzellen und Hepatozyten ebenfalls in der Lage sind, Mediatoren zu synthetisieren. Mehrere experimentelle Studien konnten solch eine Adhärenz mit einem Absinken der Thrombozyten- (Bell 1994, McKeown 1988) bzw. Lymphozytenzahl (Clavien 1991) im Reperfusat belegen. Die Konzentration der Transaminasen im Serum und der Prothrombinzeit korrelieren mit der Stärke der Adhärenz der Thrombo- und Granulozyten mit den Sinusendothelzellen (Schwartz 1990). Die am Sinusendothel haftenden neutrophilen Granulozyten setzen daraufhin Proteasen und Sauerstoffradikale frei, die ihrerseits die Entzündungskaskade durch Inaktivierung von z.B. Endothelium Derived Growth Factor (EDRF), Superoxiddismutase, Katalase und anderen Antiproteasen weiter stimulieren (Reilly 1991). In der Folge kommt es zu einer Beeinträchtigung der Mikrozirkulation und Schädigung der Sinusendothelien mit Ablösung der Sinusendothelzellen von der extrazellulären Matrix (Holloway 1990). Die Glykogenreserven der Leber beeinflussen zusätzlich das Ausmaß der Schädigung (Morgan 1991). Die Vorschädigung der Leber während der Kaltkonservierung durch die beschriebenen Mechanismen entscheidet zu einem großen Teil über das Ausmaß des Konservierungsschadens, der während der Reperfusion entsteht und als "reperfusion injury" bezeichnet wird.

Die Länge der warmen Ischämiezeit zwischen Kaltkonservierung und Reperfusion hat ebenfalls einen negativen Einfluß auf die spätere Organfunktion (Cisneros 1991, Kamiike 1988).

### 1.2.2 Konservierungslösungen

Durch die Konservierungslösungen soll in der ischämischen Phase die intra- und extrazelluläre Azidose vermindert werden, die Volumenverhältnisse aufrechterhalten werden, die Energiereserven unter anaeroben Bedingungen ausgenutzt werden, Prozesse, die nicht der Aufrechterhaltung der Zellfunktion dienen reversibel gehemmt werden und die Integrität der Zellstrukturen, die für die Funktionsaufnahme des Implantats nach Reperfusion verantwortlich sind, gewährleistet werden.

Die für die Nierentransplantation schon seit Jahrzehnten verwendete Euro-Collins (EC)-Lösung wurde 1979 in die Lebertransplantationsmedizin eingeführt. Hiermit konnten erstmals Konservierungszeiten bis zu neun Stunden erreicht werden (Benichou 1977).

Im Jahre 1986 entwickelte die Arbeitsgruppe um Belzer und Southard die University of Wisconsin-Konservierungslösung. Nach tierexperimenteller Erprobung fand sie zuerst Anwendung bei der Nieren- und Pankreastransplantation (D'Alessandro 1989). Aber auch für die Lebertransplantation gelang nach kurzer Zeit eine Verminderung des Konservierungsschadens mit einer sicheren Konservierungszeit von 24-30 Stunden in der tierexperimentellen (Jamieson 1988a) und 20 Stunden in der humanen Anwendung (Kalayoglu 1988). Aufgrund der Erkenntnisse über die Pathophysiologie des Konservierungsschadens werden als wichtige Bestandteile dieser Konservierungslösung hochenergetische Phosphate zur Regeneration von ATP eingesetzt. Dies geschieht mit dem Ziel das Ausmaß der intrazellulären Azidose, des hypothermiebedingten Zellödems und die Menge der während der Reperfusion frei werdenden Sauerstoffradikale zu reduzieren. Antioxidativ wirkende Substanzen wie Allopurinol und Glutathion sollen die Bildung von Sauerstoffradikalen und Mediatoren mildern. Im Gegensatz zur EC-Lösung, die zur Organkonservierung bei der Nierentransplantation eingesetzt wird, enthält die UW-Lösung keine Glukose. Dadurch soll die Laktatazidose mit Entstehung saurer Valenzen vermieden werden. Das impermeable Disaccharid Lactobionat und Raffinose verhindern zuverlässig das Zellödem, was die UW-Lösung anderen Konservierungslösungen überlegen macht (Yu 1990). Zusätzlich soll HAES für eine Stabilisierung des onkotischen Druckes und des extrazellulären Raumes sorgen, was nicht unwidersprochen ist (Isai 1990). Für die Wirkung der Bestandteile wird ein Summationseffekt postuliert (Southard 1990).

Viele weitere Modifizierungen der UW-Lösung wurden seit 1988 vorgenommen. Eine Lösung auf der Basis der HTK- und UW-Lösung brachte nach 24- und 30- Stunden

Kaltkonservierung von Rattenlebern signifikant bessere Ergebnisse als die Standard-UW-Lösung (Sumimoto 1991). Diese Ergebnisse ließen sich bei Kontrollexperimenten an Hunden nicht bestätigen (Sumimoto 1992). Andere mit der UW-Lösung verglichene neue Konservierungslösungen konnten sich in der klinischen Routine nicht durchsetzen (Badger 1990, Mears 1992).

Obwohl die UW-Lösung als die Lösung der ersten Wahl für die Leberkonservierung bezeichnet wird (D'Alessandro 1990), wird aufgrund ihres hohen Handelspreises auch weiterhin nach anderen Möglichkeiten der Organkonservierung gesucht, beispielsweise ermöglicht das Freispülen („Flush“) der Leber während der Spenderhepatektomie eine kostensparende Kombination mit anderen Lösungen. (Bell 1994, Garcia-Valdecasas 1992).

Seit Anfang der 60er Jahre beschäftigte sich Bretschneider mit der Suche nach einer kardioplegischen Lösung (Bretschneider 1980). Nach Entdeckung der Pufferwirkung der Aminosäure Histidin wurde die HTK-Lösung entwickelt, klinisch eingeführt und erstmals während einer Operation am offenen Herzen zur Kardioplegie verwandt. In den nachfolgenden Jahren fand die Konservierungslösung Anwendung bei Herz- und Nierentransplantationen. Die Basis dieser Konservierungslösung ist der niedrige Elektrolytgehalt, der eine hohe Konzentration des Histidin/Histidin-HCl-Puffers bei Isoosmolalität ermöglicht. Tryptophan soll einen unkontrollierten Einstrom von Histidin in die Hepatozyten verhindern. Ketoglutarat dient als Metabolit des aeroben Stoffwechsels. Der erste Einsatz in der Leberchirurgie erfolgte 1988 während einer ex-situ Operation (Pichlmayr 1988). Tierexperimentell konnte im gleichen Jahr gezeigt werden, daß eine sichere Kaltkonservierungszeit zwischen 22 und 24 Stunden möglich ist (Lamesch 1990). Wenig später gelang auch klinisch die Kaltkonservierung über 20 Stunden in der humanen Lebertransplantation (Erhard 1993, Gubernatis 1991).

Neben dem Einsatz von Konservierungslösungen während der Organentnahme und zur Kaltkonservierung gibt es Lösungen, wie z.B. Carolina Rinse zum Freispülen der Leber vor der Reperfusion. Dieses Freispülen wird als Rinse bezeichnet und soll eine bessere Organfunktion und eine geringere Rate an initialer Nichtfunktion ermöglichen (Takei 1991). Es verhindert zusätzlich eine mögliche systemische Hyperkaliämie und die systemische Wirkung von Adenosin mit möglichem Herzstillstand. Später konnte gezeigt werden, daß eine simultane Reperfusion der Arteria hepatica und der Vena portae mit Blut der Perfusion mit Carolina Rinse oder Ringer-Laktat-Lösung überlegen ist (Post 1995).

### 1.2.3 Problem der initialen Nichtfunktion

Die initiale Nichtfunktion bleibt trotz aller Fortschritte ein entscheidendes Problem der humanen Lebertransplantation. Ihre Häufigkeit beträgt immer noch 2-12% (D'Alessandro 1991, Ploeg 1993, Stratta 1990, Todo 1989).

Eine initiale Nichtfunktion kann eine sofortige Retransplantation nach sich ziehen, die ein erhebliches Risiko für den Empfänger darstellt und zusätzlich in einer Zeit immer engerer Budgetierung hohe Kosten verursacht. Ploeg (Ploeg 1993) differenziert weiter zwischen einer initialen Nichtfunktion, die immer eine Retransplantation nach sich zieht und einer initial eingeschränkten Funktion („initial poor function“), die ein Grenzfall zwischen einer möglichen späteren Funktionsaufnahme der Leber und einer notwendigen Retransplantation ist. Zusammen bestimmen beide die Häufigkeit der initialen Dysfunktion („primary dysfunction“). Um vor einer Lebertransplantation entscheiden zu können, ob ein Organ nach der Reperfusion seine Funktion aufnehmen wird oder nicht, sind dem Chirurgen bisher nur wenige Mittel an die Hand gegeben. Bis heute gibt es keine zuverlässige Methode, die Funktion der Spenderleber nach der Verpflanzung vorauszusagen. Oft entscheidet der makroskopische Eindruck der Leber oder das subjektive Gefühl des Entnahmeteam, ob eine Spenderleber für transplantabel gehalten wird. So zeigte sich, daß die Aufenthaltsdauer des Spenders auf der Intensivstation (Mor 1992), die Begrenzung des Alters des Spenders auf 50 Jahre und das Heranziehen der Todesursache sich nicht als Prädiktoren einer initialen Nichtfunktion eigneten (Jonas 1994). Diese Ergebnisse blieben nicht unwidersprochen (Haller 1995, Ploeg 1993). Dabei ist die Häufigkeit der initialen Nichtfunktion in engem Zusammenhang mit der Dauer und Qualität der Organkonservierung zu sehen (Furukawa 1991, Haller 1995). Die routinemäßige Leberbiopsie ist wenig hilfreich. Es konnte zwar gezeigt werden, daß in der Leberbiopsie pathologisch veränderte Lebern mit einer höherem Rate an initialer Nichtfunktion einhergingen (D'Alessandro 1991). Eine Aussage über die spätere Funktion eines nicht pathologisch veränderten Organs ist jedoch kaum möglich (Markin 1990). Ob andere Methoden wie zum Beispiel die Bestimmung der hepatischen Proteinsyntheserate (Matsui 1994) oder die kostenintensive und nicht überall verfügbare <sup>31</sup>P-Magnet-Resonanz-Spektroskopie in Zukunft die Abschätzung einer initialen Nichtfunktion erleichtern können, bleibt abzuwarten (Matsunami 1990). Vielversprechende Ansätze, wie der schnell durchzuführende Monoethylglycinexylidid (MEGX)-Test (Oellerich 1989) haben keine entscheidende Bedeutung in der Voraussage einer initialen Nichtfunktion

erlangt (Dette 1997). Auch die Berechnung des hepatischen Energiestatus durch Messung der energiereichen Adeninnukleotide (Katz 1994, Lanir 1988) konnte sich in der klinischen Routine bisher nicht durchsetzen.

### **1.3 Versuchsmodell**

Tierexperimentell wurden bei der Nieren- (Ackerman 1966, Belzer 1967) und der Lebertransplantation (Brettschneider 1968) von der Kaltlagerung abweichende Konservierungsverfahren mit einer kontinuierlichen Perfusion des Organs zwischen Entnahme und Verpflanzung bereits in den 60er Jahren beschritten. Da derzeit eine längere Konservierungszeit bei der Kaltlagerung mit einem deutlich höheren Risiko einer initialen Nichtfunktion einhergeht (Ploeg 1993), könnte durch eine Verlängerung der kalten Ischämiezeit möglicherweise die Rate der initialen Nichtfunktion vermindert werden und eine bessere Organqualität bei gleicher Konservierungszeit erzielt werden. Im Hundetiermodell konnte mit der kontinuierlichen Perfusion der Niere die Konservierungszeit auf fünf Tage ausgedehnt werden (McAnulty 1989). Erste vielversprechende Ergebnisse wurden bereits für die kontinuierlichen Perfusion der Leber erzielt (Pienaar 1990). Mit der klinisch etablierten Kaltkonservierung der Leber in UW-Lösung konnten Hundelebern zwischen 24 (Nagao 1992) und 48 Stunden (Jamieson 1988a) erfolgreich konserviert werden. Neuere experimentelle Daten mit einer modifizierten Kaltlagerung in UW-Lösung, bei der alle Gefäße nach dem Freispülen verschlossen wurden, gehen von einer erfolgreichen Kaltlagerung über 48 Stunden aus (Zhu 1995). Mit der HTK-Lösung gelang tierexperimentell eine Kaltlagerung über 24 Stunden (van Gulik 1993). In der klinischen Anwendung sind Konservierungszeiten von über 20 Stunden für beide Lösungen beschrieben (Gubernatis 1991, Todo 1989). Trotz der Fortschritte in der Langzeitkonservierung ist bei einer Konservierungszeit von mehr als 24 Stunden mit einer höheren Rate an postoperativen Komplikationen zu rechnen (Furukawa 1991). Somit sind weitere Verbesserungen notwendig, um diese auf ein Minimum zu reduzieren.

Nach 24 Stunden Kaltlagerung mit UW-Lösung ist nur ein geringer Konservierungsschaden zu erwarten, während nach 48 Stunden ein reproduzierbarer und ausgedehnter Konservierungsschaden mit Freisetzung großer Mengen an intrazellulären Enzymen und einer Reduktion der Gallesekretion entsteht (Jamieson 1988b). Wir wählten deshalb für alle Versuchsgruppen eine Kaltkonservierungszeit von 44 Stunden, die



zwischen 24 und 48 Stunden liegt und einen ausgeprägten, jedoch nicht irreversiblen Konservierungsschaden in erwarten läßt, um Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen deutlicher darzustellen.

Für unsere Untersuchung entschieden wir uns für das experimentelle Großtiermodell am Schwein. Dies ermöglicht die Beobachtung langzeitkonservierter Organe, die den humanen anatomischen und physiologischen Verhältnissen am ehesten entsprechen.

Als Versuchsmodell nutzten wir das von P. Neuhaus modifizierte Modell der extrakorporalen Perfusion (Neuhaus 1982). Dieses Modell ermöglicht eine gute Simulation der intraabdominellen Druckverhältnisse, die sich im Wechselspiel zwischen Inspiration und Expiration ergeben. Durch die wechselnden Druckverhältnisse und die freie Aufhängung der Leber in der mit Wasser gefüllten Kammer ist eine maximale Perfusion bis in die Peripherie der Leber gewährleistet. Dies vermeidet das Auftreten von Teilthrombosen mit nachfolgender Störung der Organperfusion und des Funktionsverlusts.

In unserem Versuchsmodell erfolgte im Gegensatz zu anderen (Pienaar 1990) die Reperfusion ebenfalls ex-vivo in der nach Neuhaus modifizierten Kammer. Die Konservierungslösung wurde entfernt und gegen bei der Hepatektomie gewonnenes Eigenblut ausgetauscht.

#### **1.4 Fragestellung und Zielsetzung**

Mit unserer Untersuchung sollten die Fragen beantwortet werden, ob im Vergleich zu der etablierten Kaltlagerung mit der kontinuierlichen Kaltperfusion über mehr als 40 Stunden mit anschließender Warmperfusion ein geringerer Konservierungsschaden entsteht, und ob eine Abschätzung des Konservierungsschadens des Organs ex-vivo mittels unserer Versuchsapparatur ohne anschließende Transplantation möglich ist. Dabei wurden die bei der Lebertransplantation zur Organkonservierung eingesetzten UW- und HTK-Lösungen zur Kaltperfusion verwendet und mit der Kaltlagerung mit UW-Lösung verglichen.

Weiterhin sollte geklärt werden, ob unser Versuchssystem tauglich ist, eine bisher unbekannte Konservierungslösung, die vorher nur in Zellkultur bzw. am Nager untersucht wurde, ohne Transplantationsversuch im Großtiermodell verlässlich zu testen. Exemplarisch untersuchten wir die kontinuierliche Kaltperfusion mit der Gerlach-FU-Lösung mit der Fragestellung, ob im Vergleich mit der kontinuierlichen Perfusion mit UW-Lösung ein ähnlicher oder geringerer Konservierungsschaden entsteht.

Der Konservierungsschaden wurde zu definierten Meßzeitpunkten mittels laborchemischer und hämodynamischer Parameter, sowie der Messung der Gallssekretion und der Lebergewichtszunahme quantifiziert.

## **2 Material und Methode**

### **2.1 Versuchstiere**

In unserer Studie machten wir insgesamt 24 Versuche ( $n = 24$ ), zu denen jeweils eine weibliche Sau der Rasse „Deutsche veredelte Landrasse“, Fa. Sommerfeld als Organspender zur Hepatektomie benötigt wurde. Das durchschnittliche Gewicht der verwendeten Tiere betrug 37,2 kg ( $\pm 16,2$ ). Die Gewichtsunterschiede ergaben sich aufgrund des Altersunterschiedes der Versuchstiere, welcher zwei bis sechs Wochen betrug.

### **2.2 Versuchsablauf**

#### Organentnahme

Vor der Hepatektomie müssen Vena jugularis interna und Arteria carotis interna präpariert werden, um einen Gefäßzugang für die Abnahme der klinisch-chemischen Parameter und die spätere Entblutung zu bekommen.

Die Hepatektomie wird nach einem standardisierten Verfahren durchgeführt, welches später ausführlich beschrieben wird.

Am Ende der Operation, nach erfolgter Kanülierung der Arteria hepatica communis und der Vena portae wird eine Flush-Konservierung durchgeführt. Mit jeweils einem Liter Belzer- UW-Lösung (Gruppe I, II, III) beziehungsweise jeweils zwei Litern der Gerlach A-FU-Lösung (Gruppe IV) werden Vena portae und Arteria hepatica communis perfundiert.

#### Kaltperfusion / Kaltlagerung

Die drei Gruppen II, III, IV werden nach der Hepatektomie bei 4 °C über ungefähr 44 Stunden in der Perfusionskammer nach Neuhaus kaltperfundiert. Hierbei kommen die Belzer-UW-, die HTK- und die Gerlach B-FU-Lösung als Perfusionsmedien zum Einsatz. Die Gruppe I (Kaltlagerung mit UW) wird über den gleichen Zeitraum in einer Kühlbox bei 4°C gelagert. Anschließend wird das kaltgelagerte Organ in die Perfusionsapparatur eingebracht, und es erfolgt wie bei den drei anderen Gruppen eine fünfstündige Warmperfusion.

### Warmperfusion

An die Kaltperfusion schließt sich nahtlos die Warmperfusion an. Als Sauerstofftransportmedium dient das während der Operation gewonnene Blut, welches auf die physiologische Schweinekörpertemperatur von 38-39 °C erwärmt wird. In einem Verlauf von fünf Stunden werden in standardisierten, regelmäßigen Abständen die klinisch-chemischen Parameter gemessen.

## **2.3 Organentnahme**

### Präoperative Vorbereitung und Narkoseführung des Tieres

Vorbereitend werden die verwendeten Schweine während der letzten 12-16 Stunden nüchtern belassen. Dabei steht ihnen Trinkwasser frei zur Verfügung.

Vor der Narkose wird die Sau mit 3-4 mg/kg Körpergewicht Azaperon i.m. (Stresnil, Fa. Janssen Pharmaceutica) sediert. Gleichzeitig erfolgt die Gabe von 0,5mg Atropinsulfat i.m. (Fa. B. Braun Melsungen), um einer Hypersalivation vorzubeugen. Nach erfolgreicher Sedation können nun 3-4 mg/kg Körpergewicht Metomidat-Hydrochlorid (Hypnodil, Fa. Janssen Pharmaceutica) und 0,4 ml/kg Körpergewicht Fentanyl (Fentanyl, Fa. Janssen Pharmaceutica) über einen in einer Ohrvene plazierten Verweilkatheter verabreicht werden, der während der Operation zur Fortführung der Narkose genutzt wird. Damit hat die eigentliche Narkose begonnen. Nachfolgend wird das Versuchstier intubiert und beatmet. Während der Operation werden Lachgas (N<sub>2</sub>O) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) in einem Verhältnis von einem Liter zu zwei Litern bei einem Atemzugsvolumen von 500 ml zugeführt. Im Anschluß daran wird eine Magensonde eingebracht, die es ermöglicht, den trotz Nahrungskarenz häufig erheblichen Mageninhalt zu entfernen, um auf diese Weise mehr Übersicht im Bauchraum während der Hepatektomie zu gewinnen. Die Aufrechterhaltung der Narkose vollzieht sich per Neuroleptanaesthetie, wobei Fentanyl und Hypnodil als Dauermedikation in einer Dosierung von je nach Gewicht 4-6 ml/Stunde über ein Perfusorsystem gegeben werden. Zur Muskelrelaxation werden 4 mg Pancuroniumbromid (Pancuronium Curamed, CuraMED Pharma) verabreicht. Bei Bedarf, in der Regel alle 15-30 Minuten, erfolgt die erneute Injektion von 4 mg Pancuronium über den Verweilkatheter in der Ohrvene zur Gewährleistung der Relaxation. Über die Ohrvene läuft während der Operation eine elektrolythaltige Tropfinfusion

(Jonosteril 1/1 E, Fa. Fresenius). Als letzte vorbereitende Maßnahme vor der Öffnung des Bauchraumes werden die rechten Halsgefäße kanüliert, um Zugänge zum venösen und arteriellen System zu erhalten. Diese sind zur Durchführung der Leberfunktionstests und den Entnahmen der Blutproben sowie zum intraoperativen Monitoring der Kreislaufparameter notwendig. Zunächst wird ein ca. 10 cm langer Halsschnitt in kraniokaudaler Richtung zwischen Trachea und Musculus sternocleidomastoideus geführt. Als nächster Schritt folgt die Durchtrennung des Platysmas und die Präparation der Vena jugularis interna und der Arteria carotis interna, wobei diese meist sehr medial in der Nähe des Larynx zu finden ist. Nach sauberer Freilegung der Gefäße werden diese auf beiden Seiten angeschlungen, wobei kranial die Zirkulation durch Zuknoten unterbrochen wird. Nun werden die beiden Gefäße nacheinander mit einer schräg angeschnittenen Heidelberger Verlängerung kanüliert und an einen Dreivegehahn angeschlossen.

### Hepatektomie

Das Abdomen wird durch einen Mittelschnitt unter Umgehung der Umbilikalgefäße vom Processus xiphoideus bis in die suprapubische Region eröffnet. Nach Einsetzen eines Bauchsperrers wird die Milz in ein Bauchtuch eingeschlagen und nach dorsal weggeschwenkt. Nun wird das Lig. hepatoduodenale aufgesucht und der Ductus choledochus präpariert und kanüliert. Die Kanülierung erfolgt mit Hilfe eines PVC-Schlauches, der mit einem Auffanggefäß verbunden ist. Die sezernierte Galle wird über eine Stunde gesammelt mit anschließender Mengenbestimmung. Während desselben Operationsschrittes werden die Arteria cystica und der Ductus cysticus gallenblasennah ligiert. Das Lig. hepatoduodenale mit der Vena portae und Arteria hepatica communis wird weiter in die Richtung des Truncus coeliacus in einer Länge von 5 cm freipräpariert. Kleine Abgänge werden verödet, größere ligiert. Anschließend werden die Lebergefäße doppelt angeschlungen. Dies ist eine vorbereitende Maßnahme zur späteren Kanülierung. Es folgt die Mobilisierung der Leber an ihren fixierten Punkten dem Lig. coronarium, den Ligg. triangularia sin. et dextr. und dem Lig. falciforme.

Im Bereich des Diaphragmas wird zirkulär um den suprahepatischen Teil der Vena cava inf. sorgfältig koaguliert, um diesen freizulegen, wobei größere zuführende Gefäße ligiert werden. Nach gelungener Präparation wird die Vena cava inf. subdiaphragmal ebenfalls angeschlungen. Infrahepatisch wird gleichermaßen verfahren mit dem Ziel auch diesen Teil der Vena cava inf. anschlingen zu können. Die Entnahme zweier Biopsien von

unterschiedlichen Leberlappen zur histologischen Aufarbeitung ist vor der Kanülierung durchzuführen.

Am Ende der Operation wird nach venöser Gabe von 200 IE/kg Körpergewicht Heparin (Liquemin N 25000, Fa. Hoffmann-La Roche) das Versuchstier über den arteriellen und venösen Zugang entblutet. Nachdem ca. 1000 ml Blut über den Konservenbeutel abgelaufen sind, werden die doppelt angeschlungenen Vena portae und Arteria hepatica comm. leberfern ligiert und lebernah kanüliert. Bei der Arteria hepatica communis wird derjenige Silikonschlauch zur Kanülierung verwendet, der auch zur anschließenden Kalt- und Warmperfusion in der Perfusionskammer benutzt wird. Zur Konservierung der Vena portae wird ein Multiorgan-Perfusions-Katheter CH 24 (Fa. Fresenius) verwendet. Anschließend ist der suprahepatische und der infrahepatische Anteil der Vena cava inf. leberfern zu ligieren und lebernah zu durchtrennen. Dadurch wird verhindert, daß während der anschließenden Flush-Konservierung Perfusionslösung in den systemischen Kreislauf und folglich in die Eigenblutkonserve gelangt. Die Flush-Konservierung, bei der gleichzeitig beide kanülierte Gefäße perfundiert werden, kann beginnen. Währenddessen geht die Entblutung weiter. Noch während der Flushkonservierung wird das Organ entnommen und in einer mit sterilem Eiswasser gefüllten Schüssel gelagert, um die Abkühlung auf 4°C zu beschleunigen und die warme Ischämie möglichst auf ein Minimum zu begrenzen, wobei darauf geachtet wird, daß die Leber nicht in direkten Kontakt mit dem Eis gerät. Die Leber wird nach der Flush-Konservierung ohne Verletzung der Sterilität gewogen. Im Anschluß erfolgt die Vorbereitung des Flush-konservierten Organs zur Lanzeitperfusion.

#### Flush-Konservierung

Nach Kanülierung der Arteria hepatica comm. und der Vena portae werden beide Gefäße bei der UW-, der HTK- und der Kaltlagerungsgruppe jeweils mit 4°C kalter 1000 ml Belzer-UW- Lösung (ViaSpan , Fa. DuPont-Pharma) über ein urologisches TUR-Schlauchset der Fresenius AG gespült, um im Leberkreislauf befindliches Blut zu entfernen und eine schnelle Abkühlung des Organs mit möglichst kurzer warmer Ischämiezeit zu erzielen. Die Arterie wird über eine Druckmanschette mit einem Druck von 180 mm Hg perfundiert. Neben diesen festen Bestandteilen wird ein Liter Flush-Lösung mit jeweils einem ml Heparin (Liquemin N 25000, Fa. Hoffmann-La Roche)/l, einem ml Benzylpenicillin-Natrium (Penicillin G , Fa. Grünenthal 1 Mega)/l, einem ml

Humaninsulin/l (H-Insulin-Hoechst , Fa. Hoechst, 1 ml=40 IE) und einem ml/l Prednisolon-21-hydrogensuccinat (Soludecortin , Fa. MERCK=25 mg/l Lösung) versetzt. Die Standard-UW-Lösung ist folgendermaßen zusammengesetzt (in mmol/l):

Laktobionat	100
Raffinose	30
K-H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K-HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	25
Mg-Sulfat	5
Glutathion	3
Adenosin	5
Allopurinol	1
HAES	50 g/l
pH=7,4, Osmolalität 320 mosmol/kg, Natrium 29 mmol/l, Kalium 125 mmol/l	

*Tabelle 1: Zusammensetzung der Standard-UW-Lösung*

In der FU-Gruppe wird mit jeweils 2000 ml der Gerlach A-FU-Lösung die Flush-Konservierung der Leber über die Arteria hepatica comm. und die Vena portae durchgeführt. Für die Gerlach A-FU-Lösung ergibt sich in mmol/l folgende Zusammensetzung :

Calcium	0,8
Magnesium	0,8
Chlor	ca.126,6
Sucrose	30
Tris max. auf 310 mosmol	20
Penicillin G	200000 IE/l
PH 7,4, Osmolalität 310-330 mosmol/kg, Natrium 120 mmol/l, Kalium 5 mmol/l	

*Tabelle 2: Zusammensetzung der Gerlach A-FU-Lösung*

Die Eigenblutentnahme wird während der Flush-Konservierung fortgesetzt bis zum Eintreten des Herzstillstandes. Hiermit tritt der Tod des Versuchstieres ein. Im Anschluß erfolgt ein Verschluß der Laparatomie und eine versuchstiergerechte Entsorgung.

#### Vorbereitung des Flush-konservierten Organs zur Langzeitperfusion

Der Anschluß an die Perfusionskammer wird vorbereitet. Dabei werden nacheinander der suprahepatische Anteil der Vena cava inf. verschlossen, der infrahepatische Anteil und die Vena portae mit Silikonschläuchen kanüliert, die an ihren Enden mit Spiralen versehen sind. Diese sollen einer Embolisierung und Kollabierung entgegenwirken. Die Schläuche werden über eine halbmondförmige Anschlußplatte mit der Perfusionskammer verbunden und unter leichtem Zug gehalten, um eine hämodynamische Beeinträchtigung der Leberzirkulation durch Abknicken zu vermeiden. Die Arteria hepatica comm. ist, wie oben dargestellt, bereits vor der Flush- Konservierung mit einem Silikonschlauch versehen worden. Der schon während der Operation entsprechend mit einer Heidelberger Verlängerung kanülierte Ductus choledochus wird ebenfalls mit der Anschlußplatte verbunden. Die sezernierte Galle wird separat in einen Auffangbehälter abgeleitet.

Als letzte vorbereitende Maßnahme vor Anschluß an die Perfusionsapparatur werden die Gefäße und Schläuche mit der jeweiligen Perfusionslösung gefüllt, wobei auf die Entfernung etwaiger Luftblasen zu achten ist.

### **2.4 Aufbau der Perfusionsapparatur**

Die Perfusionsapparatur besteht aus vier Rollerpumpen, einer abschließbaren Perfusionskammer aus Plexiglas mit einer Anschlußplatte zum Durchtritt für die mit den Gefäßen und dem Gallengang verbundenen Silikonschläuche, einem kleinen Reservebehälter zum Auffangen von lymphatischem Nebenfluß aus dem Beutel, einem Oxygenator mit Blutfilter und einem Dialysator. Dieser wird nur während der Warmperfusion eingesetzt.

#### **2.4.1 Perfusionskammer**

Die Leber wird in der Perfusionskammer in einem Isolationsbeutel aufgehängt, der das Organ vom umgebenden Wasser trennt. Die Kammer wird danach langsam mit Wasser aus einem Reservebehälter gefüllt. Die Perfusionskammer ist über ein Schlauchsystem mit einem Ausgleichsbehälter verbunden, der den Kammerdruck über einen angeschlossenen



Niveauregler registriert und reguliert. Bei zu hohem Druck in der Kammer wird über eine Ablasspumpe Wasser abgepumpt, während bei zu niedrigem Druck über eine Füllpumpe Wasser zugeführt wird. Pegelschwankungen im Ausgleichsbehälter um einen Zentimeter entsprechen einer Wasserbewegung von 100 Millilitern. Neben diesen Mechanismen findet eine komplizierte Kammerdruckregulation statt, mit Hilfe welcher versucht wird, die intraabdominellen Druckverhältnisse während der normalen Atemexkursionen zu

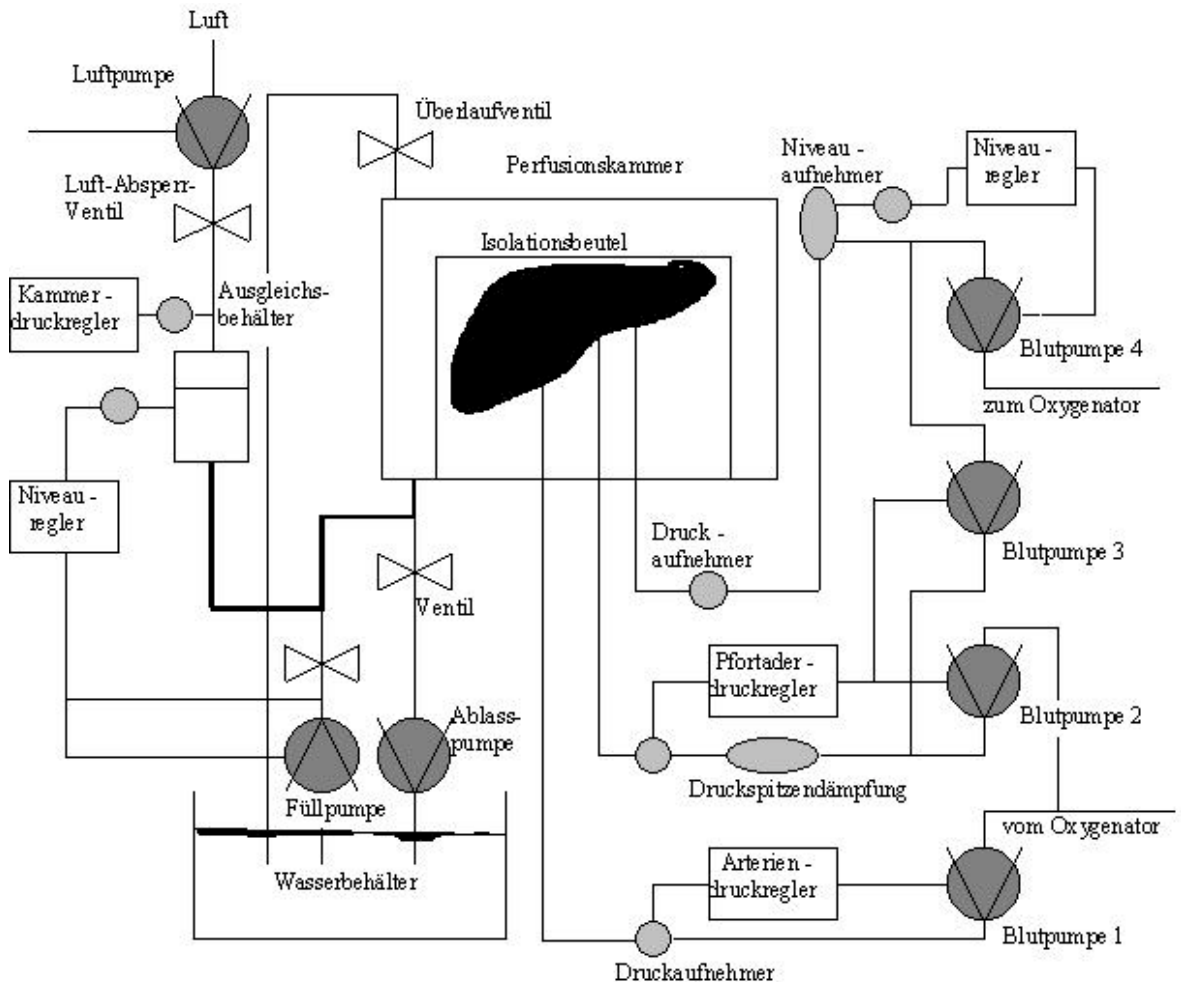


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Aufbaus der Perfusionsapparatur mit Kammer, Blutpumpen und Regelkreisen

simulieren. Mit einer Frequenz von 6/Minute sendet ein Kammerdruckregler, der über einen Druckaufnehmer mit dem Ausgleichsbehälter in Verbindung steht, Impulse an eine Luftpumpe. Die Signale folgen einer Sinuskurve. Über eine Luftinsufflation ändert sich der Druck im Ausgleichsbehälter und somit auch in der Perfusionsskammer.

## 2.4.2 Pumpen und Pumpenregulation

Die vier verwendeten Rollerpumpen gewährleisten die Kreislaufzirkulation. Mit ihrer Hilfe werden an der isolierten Leber physiologische Perfusionsverhältnisse simuliert mit arteriellem und gemischtvenösem Zufluß, sowie venösem Abtransport des Blutes aus der Leber.

Das oxygenierte Blut wird zu jeweils 150 ml/Minute der Arteria hepatica comm. über die Pumpe 1 und der Vena portae über die Pumpe 2 zugeführt. Die Vena portae bezieht über die Pumpe 3 aus dem venösen Schenkel zur Mischung weitere 300 ml/Minute, die nicht oxygeniert sind. Auf diese Weise zirkuliert in der die Vena portae gemischtvenöses Blut, was den physiologischen Verhältnissen entspricht. Insgesamt wird die Leber mit 600 ml/Minute perfundiert. Der venöse Abfluß aus der Leber erfolgt zu jeweils 300 ml/Minute über die Pumpe 3 für die venöse Beimischung zur Vena portae und über die Pumpe 4, die das Blut/Perfusat zum Dialysator befördert. Um eine gleichmäßige Perfusion des Organs auch bei schwankenden intrahepatischen Widerständen zu gewährleisten, müssen die Pumpen flexibel reguliert werden. Insofern müssen sie sich den veränderten Bedingungen anpassen können.

Den Pumpen 1 und 2 ist ein Druckaufnehmer nachgeschaltet, der den aktuellen Druck, den sogenannten Istdruck registriert. Dieser wird mit einem Solldruck verglichen, den der angeschlossene Rechner aus den intrahepatischen Druck- und Widerstandsverhältnissen ermittelt. Der Solldruck ist die berechnete Größe, bei der der vorgewählte Minutenfluß aufrechterhalten wird. In dem der Leber nachfolgenden venösen Schenkel befindet sich ein Niveaufnehmer in einem Reservoir, der den Fluß der Pumpe 4 steuert und der die Pumpe 3 bei zu geringem posthepatischen Blutfluß stoppen kann. Diese Regulation ist aufgrund der enormen sinusoidalen Speicherkapazität der Leber notwendig, da sonst über ein leergepumptes Reservoir bei geringerem Rückfluß aus der Leber und gleichbleibender Pumpleistung Luft in das System eingebracht werden könnte. Eine arterielle und portalvenöse Luftembolie wäre die Folge.

Durch eine Druckspitzendämpfung im Verlauf des portalvenösen Schenkels werden durch die Pumpen hervorgerufene Druckspitzen geglättet. In der Regel pendelt der Druck für die Arteria hepatica comm. um 60 mm Hg und für die Vena portae um 15 mm Hg. Ein Druck von maximal 200 mm Hg arteriell und 30 mm Hg portalvenös wurde als Obergrenze betrachtet mit nachfolgender Gegenregulation auf Kosten der Organperfusion. Der

cavalvenöse Druck bewegt sich in der Regel um -2 mm Hg.

### 2.4.3 Oxygenator

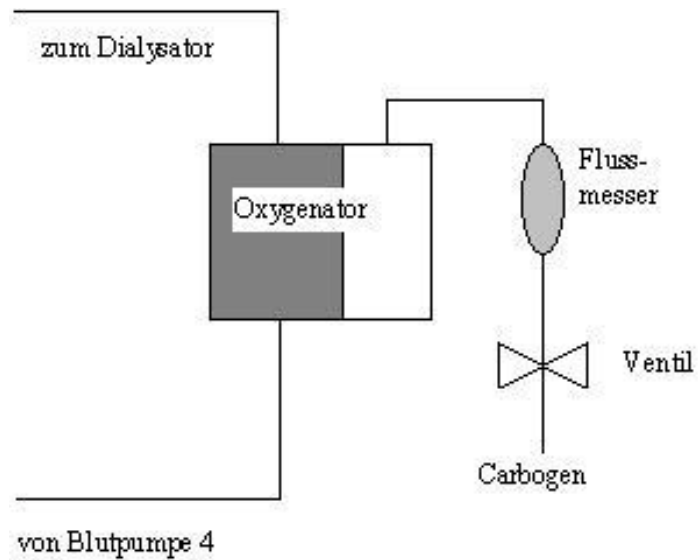


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Oxygenatorkreislaufs

Während der Kaltperfusion wird bei Fehlen von Sauerstoffträgern im zellfreien Medium eine physikalische Oxygenierung durchgeführt. Während der Warmperfusion durchfließen den Oxygenator (VPCML Plus, Fa. COBE) 300 ml/Minute Blut, die bereits den Dialysekreislauf passiert haben. Die Oxygenierungsparameter sind auf 200 ml/Minute O<sub>2</sub> und auf 100 ml/Minute Carbogen (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) eingestellt. Das oxygenierte Blut/Perfusat sammelt sich anschließend in einem Reservoir. Vor der Perfusion der Leber mit dem oxygenierten Blut/Perfusat findet eine Filterung statt.

### 2.4.4 Dialysator

Zur Aufrechterhaltung des milieu intérieur während der Warmperfusion dient die Dialyse. Verwendung findet ein Alwall GFS 12 Blood fiber Dialyzer (Fa. Gambrio). 300 ml der sich in einem Dialysatbehälter befindenden 4500 ml Dialysats (SH 01, Fa.) zirkulieren in der Minute, angetrieben von einer Pumpe. Diese Flußrate kann bei Bedarf verändert werden. Auf der venösen Seite fließen in der Regel ebenfalls 300 ml/Minute.

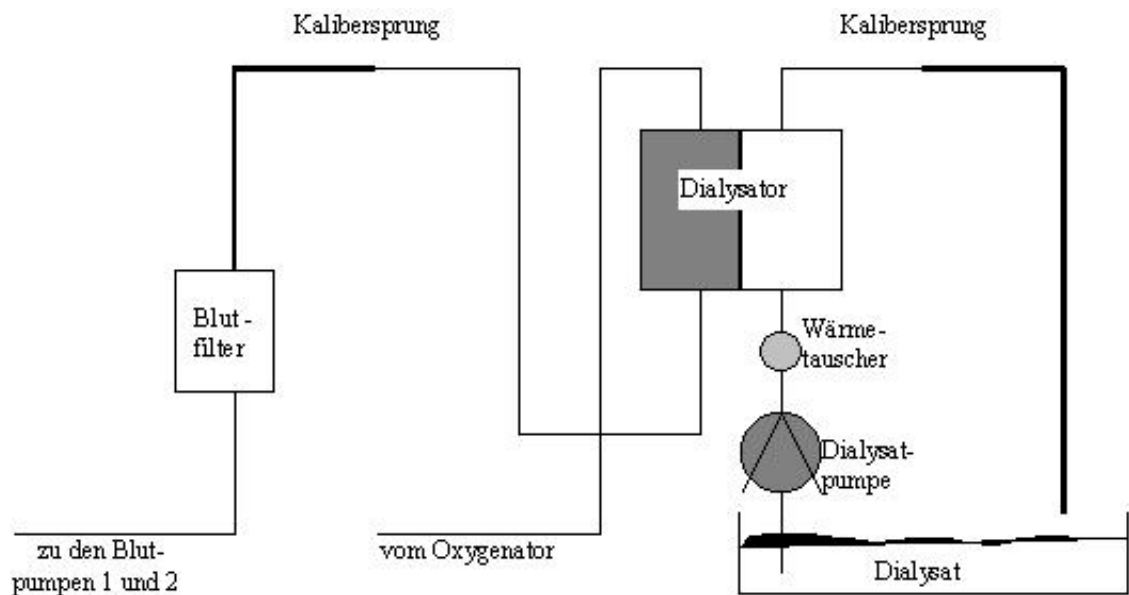


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Dialysekreislaufs

### 2.4.5 Temperaturregulation

Vier Wärmeaustauscher halten die gewünschte Temperatur aufrecht. Einer befindet sich im Dialysatbehälter, einer im Blutfilter, einer in dem mit der Kammer verbundenen Wasserbehälter und einer in der Perfusionskammer selbst.

Im Prinzip gibt es drei Temperaturmodi. Während der Kaltperfusion sind die Perfusat- und die Kammertemperatur auf den Sollwert von  $+4^{\circ}\text{C}$  eingestellt. In der Erwärmungsphase unmittelbar im Anschluß an die Kaltperfusion wird versucht, in kürzester Zeit die für die Warmperfusion angestrebten Temperaturen zu erreichen. In diesem dritten Temperaturmodus ist die Perfusionskammer auf einen Sollwert von  $38^{\circ}\text{C}$  und das Blut auf  $39^{\circ}\text{C}$  eingestellt.

### 2.5 Kaltperfusion

Der Beginn der Kaltperfusion ist definiert als Zeitpunkt, an dem die Blutpumpen 1 und 2 gestartet werden. Die kalte Ischaemiezeit zwischen Ende der Flush-Konservierung und Beginn der Kaltperfusion endet hier. Die Leberperfusion beginnt. Die Kaltperfusion endet mit dem Ablassen des Perfusats aus dem Reservoir. Durch die niedrige Temperatur während der Kaltperfusion soll der Leberstoffwechsel reduziert werden, um den zu erwartenden Perfusionsschaden auf ein Minimum zu begrenzen. Es erfolgt eine regelmäßige Kontrolle der physikalisch gelösten Gase. Serumentnahmen nach acht,

sechzehn, vierundzwanzig, zweiunddreißig und vierzig Stunden postoperativ dienen der Aufzeichnung von Veränderungen in den klinisch-chemischen Parametern während der Kaltperfusion.

Die für die UW-, FU- und HTK-Gruppe verwendeten Perfusionslösungen zirkulieren im Kreislauf der beschriebenen Apparatur über einen Zeitraum von ungefähr 44 Stunden bei 4°C. Die Zusammensetzungen der verschiedenen Lösungen werden im Abschnitt 2.8, Seite 23 ausführlich erläutert. Am Ende der Kaltperfusion wird das zellfreie Effluat verworfen mit nachfolgender Warmperfusion.

## **2.6 Kaltlagerung**

Die Kaltlagerung wird mit sechs Schweinelebern als Kontrolle zu den kontinuierlich perfundierten Lebern durchgeführt. Präoperatives Vorgehen, Hepatektomie und Flush-Konservierung entsprechen dem Ablauf in den anderen Gruppen. Vorbereitend auf die spätere Warmperfusion werden die Gefäße bereits zu diesem Zeitpunkt mit Silikonschläuchen kanüliert, mit Standard-Belzer-UW Lösung gefüllt und verschlossen. Die Leber wird anschließend in einen sterilen mit Standard-Belzer-UW Lösung gefüllten Beutel gelegt. Dieser muß sorgfältig verschlossen werden, wobei vorhandene Luft zu entfernen ist, um eine optimale Kühlung nicht zu gefährden. Danach wird das sich im Beutel befindende Organ in eine mit Trockeneis vorbereitete Kühlbox eingebracht. Nach ungefähr 44 Stunden kalter Ischämie erfolgt der Anschluß an die Perfusionskammer mit nachfolgender Warmperfusion, die analog zu den anderen Gruppen abläuft.

## **2.7 Warmperfusion**

Nach ungefähr 44 Stunden Kaltperfusion wird die für den jeweiligen Versuch verwendete Lösung aus dem Kreislauf entfernt. Das Blutreservoir wird dazu bis auf ein Restvolumen von 50-100 ml abgelassen. Eine weitere Reduzierung des Restvolumens beinhaltet die große Gefahr des Auftretens einer Luftembolie, die zu einer irreparablen Schädigung der Leber führen könnte. Das Perfusat wird durch während der Operation gewonnenes Eigenblut ersetzt. Sobald es verworfen ist definieren wir den Beginn der Erwärmungsphase. Dieser Zeitpunkt ist der Nullpunkt. Das Eigenblut wird langsam auf die physiologische Körpertemperatur des Schweines von 38-39°C erwärmt. Parallel wird das kalte Wasser aus der Perfusionskammer nach Neuhaus entfernt und durch warmes ersetzt. Für die kaltgelagerten Lebern entfällt diese Prozedur. Diese Lebern werden nach der

Kaltlagerung sofort in die Perfusionskammer eingebracht, angeschlossen und mit dem während der Operation gewonnenen Schweineblut perfundiert, welches ebenfalls auf 38-39°C erwärmt wird.

Es erfolgt die erste Blutentnahme über den venösen Schenkel und die erste Blutgasanalyse. Hiernach kann Pufferung mit Natriumbikarbonat zur Korrektur erfolgen. Weitere regelmäßige Blutentnahmen und Blutgasanalysen werden zu den bei 2.9, Seite 27 genannten standardisierten Zeitpunkten durchgeführt. Stündlich wird die über den Ductus choledochus drainierte Galle gemessen. Nach Versuchsende wird die Leber nochmals gewogen.

## 2.8 Versuchsgruppen

Insgesamt haben wir siebenundzwanzig Versuche durchgeführt. Vierundzwanzig Tiere gelangten in die Auswertung. Drei Versuche mußten abgebrochen werden. Dabei kam es in jeweils einem Fall in der Kaltlagerungs- und der HTK-Gruppe zu operationstechnischen Fehlern, die während der Konservierungsphase zum Abbruch zwangen. Während eines Versuchs trat in der HTK-Gruppe ein technischer Defekt der Versuchsanlage während der Kaltperfusion auf.

Es erfolgte eine Einteilung in vier Gruppen, wobei sechs Versuche jeweils eine Gruppe bilden.

Eine vollständige Randomisierung konnte aufgrund der unterschiedlichen Verfügbarkeit der einzelnen Lösungen nicht erfolgen. Sie erfolgte indirekt durch eine nicht vorhersehbare Verfügbarkeit über die Apotheke.

Gruppe	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
n	6	6	6	6
mittleres Gewicht	30,9±10,5 kg	42,7±11,2 kg	43,3±8,2 kg	31,6±6,4 kg
mittlere Kaltkonservierungszeit	43h 48min ±60 min	44h 34min ±66 min	44h 53min ±71 min	44h 11min ±61 min

*Tabelle 3: Einteilung der Versuchsgruppen*

### 2.8.1 Kaltperfusion mit der modifizierten Maschinen-UW-Lösung

Die bei dieser Gruppe zur Kaltperfusion eingesetzte Maschinen-UW-Lösung differiert in ihrer Zusammensetzung von der für die Flush-Konservierung verwendeten Standard-UW-Lösung. Die Darstellung der Konservierungslösungen erfolgt in mmol/l.

	Maschinen-UW-Lösung	Standard-UW-Lösung
Na-insgesamt	100	29
K-insgesamt	25	125
Gluconat	100	-
Laktobionat	-	100
Raffinose	35	30
K-H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /K-HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	25	25
Mg-Sulfat/Mg-Gluconat	5	5
Glutathion	3	3
Adenosin	5	5
Adenin	1	1
HAES	50 g/l	50 g/l
HEPES	10	-
Glucose	5	-
Ribose	1	-
Calciumchlorid	1,5	-
pH=7,4, Osmolalität 320 mosmol/kg		

*Tabelle 4: Vergleich der Zusammensetzung der Maschinen-UW-Lösung mit der Standard UW-Lösung*

Die Maschinen-UW-Lösung besitzt im Gegensatz zur Standard-UW-Lösung mit inverser Natrium-Kalium-Relation ein physiologisches Natrium-Kalium-Verhältnis. Dies ist der entscheidende Unterschied zwischen den beiden Konservierungslösungen. Als Impermeant dient bei der Maschinen-UW-Lösung Gluconat, während in der Standard-UW-Lösung Laktobionat eingesetzt wird. Die übrigen Komponenten liegen in annähernd gleichen Konzentrationen vor. HEPES, Glucose, Ribose und Calciumchlorid sind weitere Bestandteile der Maschinen-UW-Lösung.

### 2.8.2 Kaltperfusion mit HTK-Lösung

In dieser Gruppe kommt die seit Jahren zur Kardioplegie und vor allem zur Organkonservierung der Niere verwendete HTK-Bretschneider Lösung (Custodiol, Fa. Dr. F. Köhler Chemie) zum Einsatz. Ihre einzelnen Bestandteile (in mmol/l) sind folgende:

NaCl	15
KCl	9
Kaliumhydrogen-2 ketoglutarat	1
MgCl · 6 H <sub>2</sub> O	4
Histidin · HCl H <sub>2</sub> O	18
Histidin	180
Tryptophan	2
Mannitol	30
CaCl	0,015
Anion: Chlorid	50
in 1000 ml Aqua ad injectabile, pH 7,02-7,2, Osmolalität 310 mosmol/kg	

*Tabelle 5: Zusammensetzung der HTK-Bretschneider Lösung*



### 2.8.3 Kaltperfusion mit Gerlach B-FU-Lösung

Hier wird die bereits oben in ihrer Zusammensetzung beschriebene Gerlach A-FU-Lösung zur Flush-Konservierung verwendet (siehe 2.3, Seite 15). Zur Kaltperfusion kommt die Gerlach B-FU-Lösung („Konservierung“) zum Einsatz. Am Ende der Kaltperfusion nach ungefähr 44 Stunden wird im Gegensatz zu den anderen Gruppen mit Hilfe der Gerlach C-FU-Lösung ein „Rinse“ durchgeführt. Die beiden Konservierungslösungen setzten sich folgendermaßen zusammen (mmol/l).

	Gerlach B-FU-Lösung	Gerlach C-FU-Lösung
Natrium	120	120
Kalium	5	5
Calcium	0,8	0,8
Magnesium	0,8	0,8
Chlor	ca. 126,6	ca. 126,6
Sucrose	30	30
Tris max. auf 310 mosM	20	20
HAES	30 g/l	-
Glutathion	3	3
Allopurinol	1	1
Adenosin	5	5
Insulin	40 IE/l	40 IE/l
Dexamethason	16 mg/l	16 mg/l
Penicillin G	200000 IE/l	200000 IE/l
pH 7,4, Osmolalität 310-330 mosm/kg H <sub>2</sub> O		

*Tabelle 6: Vergleich der Zusammensetzung der Gerlach B-FU-Lösung mit der Gerlach C-FU-Lösung*

Durch diese Freispülung wird die Gerlach B-FU-Lösung aus dem Perfusionskreislauf entfernt. Im Anschluß wird die Gerlach C-FU-Lösung aus dem Kreislauf entfernt und die Warmperfusion mit Eigenblut begonnen (siehe 2.7, Seite 22). Die Gerlach FU-Lösung besitzt wie die Maschinen-UW-Lösung ein physiologisches Natrium-Kalium Verhältnis. Im Unterschied zur Gerlach B-FU-Lösung wird der C-Lösung kein HAES zugefügt.

#### **2.8.4 Kaltlagerung mit UW**

In dieser Gruppe wird nach erfolgter Hepatektomie und Flush-Konservierung mit Belzer-UW-Lösung die oben beschriebene Kaltlagerung durchgeführt.

### **2.9 Parameter**

Die Messung der ausgewählten Parameter erfolgte zu definierten Meßzeitpunkten während der Warmperfusion.

#### **2.9.1 Klinisch-chemische Parameter**

Die Bestimmung der entnommenen Proben erfolgte durch das Zentrallabor der Charité Campus Virchow-Klinikum. Zu jedem Entnahmezeitpunkt wird eine Serum-, eine EDTA- und eine Zitratmonovette entnommen, die nach den Standards der klinischen Routine im Zentrallabor untersucht wurde.

Die Auswahl der zu bestimmenden Parameter erstreckt sich über die klassischen Transaminasen GOT und GPT, die Gallengangsenzyme AP und GGT, das Gesamtbilirubin, die PCHE als Parameter der intrahepatischen Synthese und das Albumin.

Die Entnahmen des Routinelabors vollziehen sich intraoperativ nach Präparation und Kanülierung der Halsgefäße vor jeglicher intraabdomineller Manipulation, während der Kaltperfusion nach acht, sechzehn, vierundzwanzig, zweiunddreißig und vierzig Stunden, sowie während der Warmperfusion nach 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 und 300 Minuten. Hämoglobin und Hämatokrit wurden intraoperativ, nach 0 und nach 300 Minuten gemessen und dienten der ausschließlichen Qualitätsbeurteilung des zirkulierenden Blutes.

#### *GOT (Glutamat-oxalacetat-transaminase, AST)*

Der subzelluläre histologische Aufbau des Hepatozyten unterscheidet ein mitochondriales (GOT-m) und ein zytoplasmatisches Kompartiment (GOT-c).

Die beiden Isoenzyme sind in einem Verhältnis von 4:1 verteilt. Die Freisetzung der AST-

m erfolgt aufgrund der mitochondrialen Lokalisation erst bei stärkeren Schädigungen. Die Aktivität der AST-c ist frühzeitig bei Leberstoffwechselstörungen erhöht. Die Halbwertszeit beträgt  $17 \pm 5$  Stunden.

Neben den Hepatozyten findet sich die GOT ubiquitär in vielen Geweben, z. B. im Skelettmuskelgewebe und Myokard. Eine Beeinflussung der Serumkonzentration durch Freisetzung des Enzyms in diesen Organen entfällt durch unseren Versuchsaufbau mit isolierter Perfusion der Leber in der Perfusionskammer nach Neuhaus.

#### GPT (Glutamat-pyruvat-transaminase, ALT)

Der Anstieg der GPT ist ein spezifisches Zeichen einer Leberzellschädigung und eignet sich deshalb besonders zum Nachweis eines Perfusionsschadens. Die intrahepatische Verteilung ist im Gegensatz zur GOT zu 85 % zytoplasmatisch und zu 15 % mitochondrial. Die Relation von leicht freisetzbarem (zytoplasmatisch) zu schwer freisetzbarem (mitochondrial) Enzym ist hier in Richtung einer frühen Aktivitätserhöhung bei beginnendem Perfusionschaden verschoben. Die Halbwertszeit beträgt  $47 \pm 10$  Stunden.

Im funktionellen Azinus nach Rappaport sind die GOT und die GPT besonders in der nährstoff- und sauerstoffreichen Zone 1 lokalisiert, in der Stoffwechselprozesse wie beispielsweise die Gluconeogenese, die Atmungskette, der Citratzyclus und die Oxidation von Fettsäuren ablaufen.

#### GGT (Gamma-Glutamyl-transferase)

Die GGT ist ein ubiquitär vorkommendes Enzym mit hoher Aktivität in der Niere, dem Pankreas und der Leber. In den Erythrozyten konnte keine GGT-Aktivität nachgewiesen werden. Die  $\gamma$ -GT ist in den Hepatozyten an die Membranen des glatten endoplasmatischen Retikulums gebunden und kanalikulären Segment der Hepatozytenmembran lokalisiert. Bei einer Schädigung der intra- oder extrahepatischen Gallengänge kommt es zu einer Induktion der Synthese der membrangebundenen Form und zu einer Solubilisierung der kanalikulären Form mit Erhöhung der Serumkonzentration.

#### AP (Alkalische Phosphatase)

Die AP ist hepatisch im Zytosol der Zellen anzutreffen. Zusätzlich findet sich ein großer Anteil membrangebunden kanalikulär. Hohe AP-Konzentrationen lassen sich auch im Knochengewebe und in der Plazenta nachweisen.

Bei intra- oder extrahepatischer Schädigung der Gallengänge kommt es zu einer Konzentrationserhöhung aufgrund der Induktion der Neusynthese des Enzyms durch Gallensäuren, weiterhin durch Solubilisierung der kanalikulären Anteile und durch aktive Sekretion der Hepatozyten.

Eine alleinige Beeinträchtigung der Hepatozyten ohne Mitbeteiligung der Gallengänge kann zu einer mäßigen Erhöhung der AP-Serumkonzentration führen.

### Gesamtbilirubin

Bilirubin entsteht beim Katabolismus von Hämoproteinen. Bei der Elimination dieser apolaren, lipophilen Stoffwechselprodukte kommt der Leber eine entscheidende Rolle zu. Prä-, intra- und posthepatische Störungen können einen Anstieg des Gesamtbilirubin nach sich ziehen.

### PCHE (Pseudocholinesterase)

Die PCHE katalysiert die Hydrolyse synthetischer Thiocholinester. Dieses Enzym ist ein diagnostischer Marker für die Synthesekapazität der Leber. Die Syntheseleistung korreliert mit der des Albumin. Die Halbwertszeit beträgt ungefähr 10 Tage.

### Albumin

Der Untergang von Leberparenchym führt zu einer Verminderung der hepatischen Synthese von Albumin. Im Blut zeigt sich eine Hypoalbuminämie. Die Plasmahalbwertszeit beträgt 20 Tage. Der Abbau erfolgt mit einer Abbaurrate von täglich 10 %, welches der täglichen Syntheserate entspricht.

## **2.9.2 Gallesekretion**

Die Gallesekretion wurde intraoperativ nach Kanülierung des Gallenganges über eine Stunde gemessen. Anschließend wurde die Galle während der Kaltkonservierung und der Warmperfusion gesammelt.

## **2.9.3 Gefäßwiderstand der Arteria hepatica communis**

Während der gesamten Konservierungsphase und Warmperfusion wurde in engmaschigen Abständen der Gefäßwiderstand der Arteria hepatica communis gemessen.

Dieser resultiert aus der unter 2.4.2 beschriebenen Pumpenregulation mit eingestellten maximalen Grenzen für arteriellen Blutfluß und arteriellen Blutdruck.

#### **2.9.4 Lebergewicht postoperativ und nach Warmperfusion**

Jede Leber wurde nach der Hepatektomie und nach der Warmperfusion gewogen.

#### **2.9.5 Statistische Verfahren**

Die Ergebnisse der klinisch-chemischen Parameter, der Gallesekretion und der Lebergewichtszunahme zwischen den einzelnen Versuchsgruppen wurden mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Test für mehrere unverbundene Stichproben statistisch untersucht. Dabei wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha$  mit 1 bzw. 5 % festgesetzt. Somit wurde ein  $p < 0,01$  als stark bzw.  $< 0,05$  als schwach signifikant angesehen. Bei signifikantem Ergebnis des Kruskal-Wallis-Test wurde eine multiple Testung zwischen den einzelnen Gruppen anhand des Student-Newman-Keuls-Test durchgeführt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Messung der klinisch-chemischen Parameter

Alle im folgenden aufgeführten klinisch-chemischen Parameter wurden zu definierten Meßzeitpunkten während der Warmperfusion gemessen. Es erfolgt eine Umrechnung auf 100g Lebergewicht, da sich die Lebergröße der einzelnen Schweine als verschieden erwies bei ansonsten gleichen Bedingungen in der Perfusionskammer, sowie den damit konnektierten Schläuchen und Reservoirren. Aus diesen Gründen ist bei einer größeren Leber unter gleichen Bedingungen ein höherer Wert zu erwarten. Besonders aussagekräftig sind die Werte zum Meßzeitpunkt 0, 60 und 300 min. Damit werden der Konservierungsschaden, die Situation nach Wiederaufnahme des Stoffwechsels während der Reperfusion und abschließend der Konservierungs- und Reperfusionsschaden erfaßt.

Präoperativ wurde bei allen Tieren jeder einzelne klinisch-chemische Parameter bestimmt, welcher nicht auf 100g Lebergewicht angegeben ist, da hier im Verhältnis zur Perfusionskammer nach Neuhaus die Körpergröße und die verschiedenen Kompartimente und Organsysteme annähernd proportional mit dem Lebergewicht korrelieren.

#### GOT

Präoperativ beträgt die mittlere GOT-Serumkonzentration 35,5 ( $\pm 8,0$ ) U/l in der UW-, 25 ( $\pm 3,1$ ) U/l in der FU-, 23,2 ( $\pm 3,5$ ) U/l in der HTK- und 24,7 ( $\pm 2,4$ ) U/l in der Kaltlagerungsgruppe. Die statistische Prüfung für die präoperativen Werte ergibt keine signifikanten Unterschiede.

Zu Beginn der Warmperfusion nach 0 Minuten besitzt die FU-Gruppe die niedrigste mittlere GOT-Serumkonzentration. Am Ende der Erwärmungsphase nach 60 Minuten und am Ende der Reperfusion nach 300 Minuten hat die UW-Gruppe im Mittel niedrigere Konzentrationen als die FU-Gruppe. Die HTK- und die Kaltlagerungsgruppe haben an allen gemessenen Zeitpunkten höhere Werte als die UW- und die FU-Gruppe, wobei die HTK-Gruppe immer die höchste mittlere Serumkonzentration aufweist.

Im Test nach Kruskal-Wallis für mehrere unverbundene Stichproben ergeben sich signifikante Unterschiede mit  $p < 0,01$  zu den Meßzeitpunkten 0 und 60 Minuten. Nach 300 Minuten ist  $p < 0,05$ . Im Student-Newman-Keuls-Test sind zum Meßzeitpunkt 0 Minuten die Werte der UW- und der FU-Gruppe signifikant ( $p < 0,01$ ) niedriger als die der HTK-

GOT U/l/100g	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
0 min	18,3 (±4,6) <sup>°#</sup>	11,8 (±4,3)* <sup>a</sup>	198,7 (±44,7) <sup>°*1</sup>	111,5 (±48,2)# <sup>a 1</sup>
60 min	33,6 (±4,8) <sup>°#2</sup>	61,6 (±24,7)* <sup>2</sup>	264,2 (±53,0) <sup>°*1</sup>	146,2 (±48,6)# <sup>1</sup>
300 min	250,5 (±68,6) <sup>°</sup>	404,3 (±119,2)	680,4 (±59,2) <sup>°</sup>	485,5 (±83,7)

<sup>°</sup>p<0,01 UW vs. HTK, #p<0,05 UW vs. Kalt., \*p<0,01 FU vs. HTK, <sup>a</sup>p<0,05 FU vs. Kalt., <sup>1</sup>p<0,05 Kalt. Vs. HTK, <sup>2</sup>p<0,05 UW vs. FU

Tabelle 7: Mittlere GOT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion

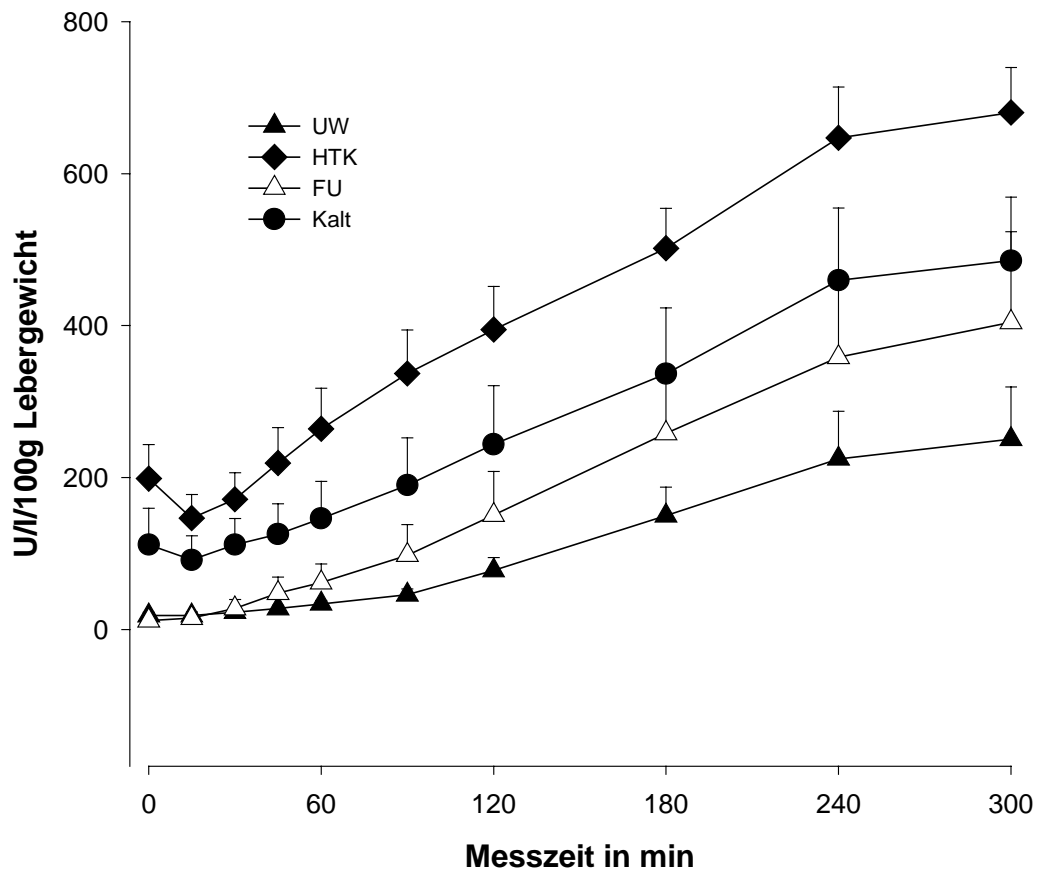


Abbildung 4: Mittlere GOT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf

Gruppe. Weiterhin ist die mittlere GOT-Serumkonzentration der UW- und der FU-Gruppe signifikant geringer ( $p < 0,05$ ) als die der Kaltlagerungsgruppe. In der Kaltlagerungsgruppe lassen sich signifikant geringere GOT-Werte messen als in der HTK-Gruppe ( $p < 0,05$ ).

Nach 60 Minuten ergeben sich wie zu Beginn der Warmperfusion die gleichen Konstellationen zwischen der UW- und der FU-Gruppe im Vergleich mit der HTK-Gruppe mit einer Signifikanz von  $p < 0,01$ . Zusätzlich besitzt die UW-Gruppe nach 60 Minuten eine signifikant ( $p < 0,05$ ) niedrigere mittlere GOT-Serumkonzentration als die FU- und die Kaltlagerungsgruppe. Der zu Beginn der Warmperfusion gemessene signifikante Unterschied zwischen der Kaltlagerungsgruppe und der HTK-Gruppe ( $p < 0,05$ ) besteht auch nach 60 Minuten.

Am Ende der Warmperfusion nach 300 Minuten lassen sich signifikante ( $p < 0,01$ ) Unterschiede der UW-Gruppe im Vergleich zur HTK-Lösung nachweisen, mit niedrigeren GOT-Werten der mit UW-Lösung kaltperfundierten Lebern.

Der Vergleich der mittleren GOT-Serumkonzentration im Verlauf der Warmperfusion in der Abbildung 4 zeigt, daß die HTK- und die Kaltlagerungsgruppe bereits nach der Warmperfusion höhere GOT-Werte als die beiden anderen Gruppen aufweisen. Während der Warmperfusion verlaufen die Mittelwertskurven der verschiedenen Gruppen annähernd parallel mit einem Maximum nach 300 Minuten. Dabei besitzt die Mittelwertskurve der HTK-Gruppe die höchste und die der UW-Gruppe die niedrigste GOT-Serumkonzentration.

### GPT

<b>GPT U/l/100g</b>	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
0 min	1,4 ( $\pm 0,3$ ) <sup>°</sup> \$	1,1 ( $\pm 0,1$ )*&	8,5 ( $\pm 1,4$ ) <sup>°*</sup>	5,5 ( $\pm 1,9$ )\$&
60 min	1,9 ( $\pm 0,3$ ) <sup>°</sup> \$	2,4 ( $\pm 0,6$ )*§	9,5 ( $\pm 1,4$ ) <sup>°*</sup> <sup>1</sup>	6,6 ( $\pm 1,9$ )\$§ <sup>1</sup>
300 min	8,3 ( $\pm 2,8$ ) <sup>•</sup>	11,0 ( $\pm 2,9$ )#	22,8 ( $\pm 3,3$ ) <sup>•</sup> #	15,8 ( $\pm 3,4$ )
<sup>°</sup> $p < 0,01$ UW vs. HTK, <sup>•</sup> $p < 0,05$ UW vs. HTK, <sup>\$</sup> $p < 0,01$ UW vs. Kalt., <sup>*</sup> $p < 0,01$ FU vs. HTK, <sup>&amp;</sup> $p < 0,01$ FU vs. Kalt., <sup>#</sup> $p < 0,05$ FU vs. HTK, <sup>§</sup> $p < 0,05$ FU vs. Kalt., <sup>1</sup> $p < 0,05$ Kalt. vs. HTK				

*Tabelle 8: Mittlere GPT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion*



Präoperative wird eine mittlere GPT-Serumkonzentration von 20,7 ( $\pm 1,6$ ) U/l in der UW-, 21,3 ( $\pm 2,4$ ) U/l in der FU-, 21,5 ( $\pm 1,8$ ) U/l in der HTK- und 20,3 ( $\pm 1,8$ ) U/l in der Kaltlagerungsgruppe gemessen. Mittels Kruskal-Wallis- und Student-Newman-Keuls-Test lassen sich präoperativ keine signifikanten Unterschiede berechnen. Die mittlere GPT-Serumkonzentration ist in der HTK-Gruppe zu Beginn der Reperfusion am höchsten, während die mit FU-Lösung kontinuierlich kaltperfundierten Lebern die niedrigste mittlere Serumkonzentration besitzt. Die Werte der UW-Gruppe sind nach 0 Minuten nur gering höher als die der FU-Gruppe. Nach 60 Minuten hat die UW-Gruppe ähnlich der Beobachtung bei der GOT niedrigere GPT-Konzentrationen als die FU-Gruppe. Die HTK- und die Kaltlagerungsgruppe haben höhere GPT-Werte, wobei erstere die höchste mittlere Serumkonzentration aufweist. Diese Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen nach 60 Minuten bleiben bis zum Ende der Warmperfusion nach 300 Minuten bestehen. Der Test nach Kruskal-Wallis ergibt signifikante statistische Unterschiede zu den

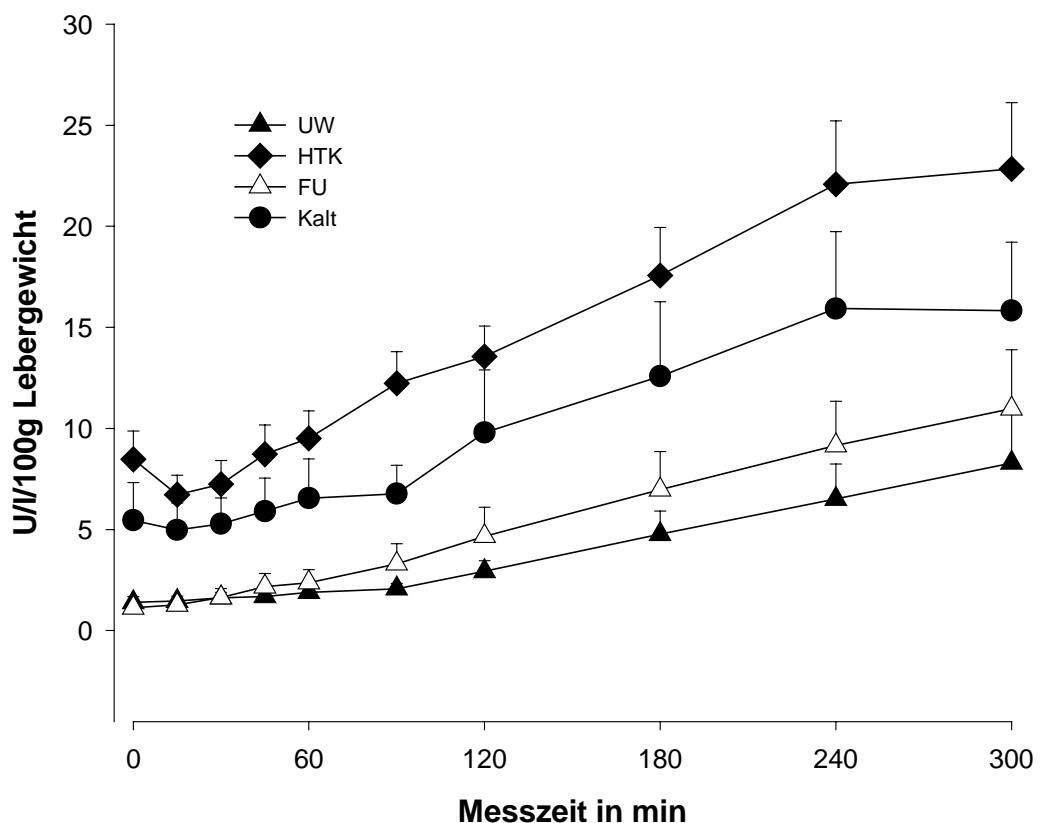


Abbildung 5: Mittlere GPT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf

Meßzeiten 0, 60 (jeweils  $p < 0,01$ ) und 300 Minuten ( $p < 0,05$ ). Im Student-Newman-Keuls-Test sind zum Zeitpunkt 0 Minuten die Meßwerte der UW- und der FU-Gruppe jeweils signifikant geringer ( $p < 0,01$ ) im Vergleich mit der HTK- und der Kaltlagerungsgruppe. Bei der Entnahme nach 60 Minuten sind die GPT-Werte der UW- und der FU-Gruppe ebenfalls signifikant kleiner ( $p < 0,01$ ) als die der HTK-Gruppe. Für die Kaltlagerungsgruppe ließen sich ebenfalls signifikant geringere GPT-Werte im Vergleich mit der HTK-Gruppe messen ( $p < 0,05$ ). Weiterhin lassen sich signifikante Unterschiede mit kleineren Meßwerten für die UW- ( $p < 0,01$ ) und die FU-Gruppe ( $p < 0,05$ ) im Vergleich mit der Kaltlagerung feststellen. Am Ende der Warmperfusion nach 300 Minuten ergeben sich signifikant ( $p < 0,05$ ) geringere GPT-Werte für UW- und FU-Lösung im Vergleich mit der HTK-Lösung.

Aus der Abbildung 5 ist zu ersehen, daß der Verlauf der mittleren GPT-Serumkonzentration dem der GOT ähnlich ist, mit bereits nach der Kaltkonservierung höheren GPT-Konzentrationen für die HTK- und die Kaltlagerungsgruppe. Zu Beginn der Warmperfusion zeigt die FU-Gruppe leicht geringere GPT-Werte als die UW-Gruppe. Bereits nach 45 Minuten besitzt die UW-Gruppe, vergleichbar mit den Mittelwertskurven der GOT, geringere Werte als die mit der FU-Lösung konservierten Lebern. Dieser Verlauf bleibt bis zum Ende der Warmperfusion bestehen, wobei die Mittelwertskurven annähernd parallel verlaufen.

### GGT

Präoperativ ist die mittlere GGT-Serumkonzentration 15,2 ( $\pm 2,2$ ) U/l in der UW-, 23,7 ( $\pm 4,4$ ) U/l in der FU-, 18,4 ( $\pm 1,7$ ) U/l in der HTK- und 13,2 ( $\pm 1,7$ ) U/l in der Kaltlagerungsgruppe, ohne daß sich signifikante Unterschiede nachweisen lassen.

<b>GGT</b> in U/l/100g	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
0 min	0,973 ( $\pm 0,346$ )	0,919 ( $\pm 0,154$ )	1,143 ( $\pm 0,115$ )	2,272 ( $\pm 0,620$ )
60 min	1,724 ( $\pm 0,306$ )	2,249 ( $\pm 0,260$ )	2,610 ( $\pm 0,560$ )	1,666 ( $\pm 0,447$ )
300 min	2,159 ( $\pm 0,527$ )	2,637 ( $\pm 0,302$ )	2,753 ( $\pm 0,524$ )	1,474 ( $\pm 0,347$ )

*Tabelle 9: Mittlere GGT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion*

Wie Tabelle 3 zu entnehmen ist, hat die FU-Gruppe zu Beginn der Warmperfusion die niedrigste mittlere GGT-Serumkonzentration, die durch die UW-Gruppe nur geringfügig übertroffen wird. Die Kaltlagerungsgruppe besitzt zu Beginn der Warmperfusion die höchsten mittlere Serumkonzentration. Nach 60 und 300 Minuten sind die GGT-Werte in dieser Gruppe am geringsten, gefolgt von der UW- und der FU-Gruppe. Die HTK-Gruppe zeigt nach 60 und 300 Minuten die höchsten Serumkonzentrationen. An keinem der verschiedenen Meßzeitpunkte ergeben sich im Kruskal-Wallis-Test signifikante Unterschiede.

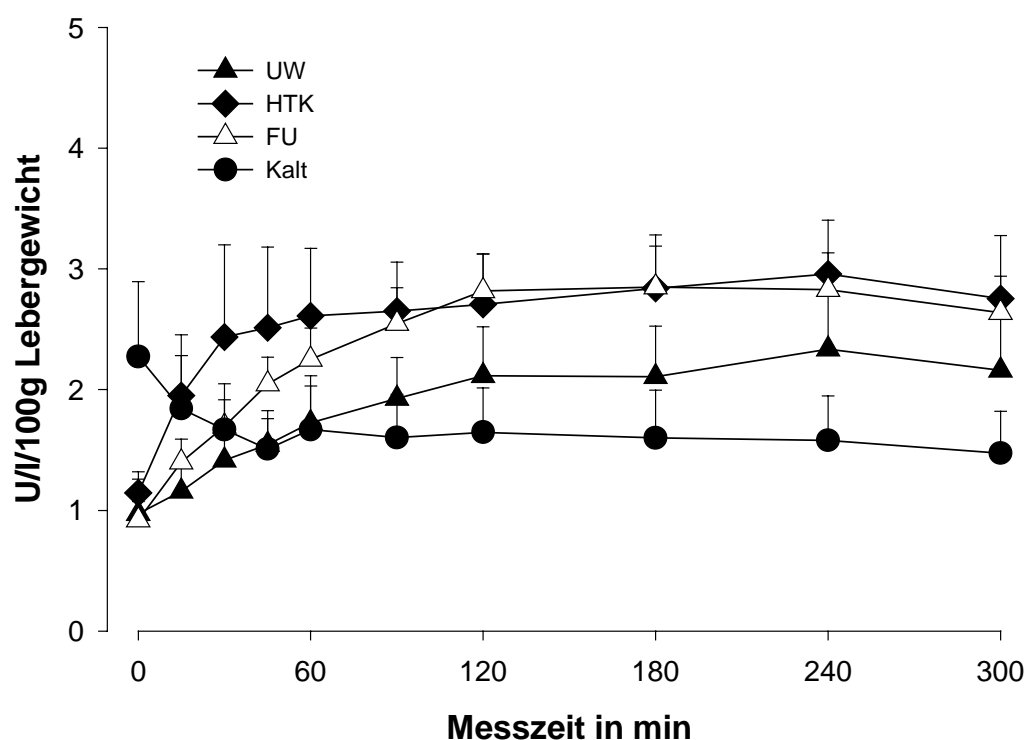


Abbildung 6: Mittlere GGT- Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf

Anhand der Abbildung 6 läßt sich erkennen, daß im Verlauf der Warmperfusion die GGT-Werte der UW-, der FU- und der HTK-Gruppe kontinuierlich ansteigt und ihr Maximum zwischen 180 und 240 Minuten erreicht, während die Mittelwertskurve der Kaltlagerungsgruppe während der Reperfusion absinkt mit einem Maximum nach 0 und einem Minimum nach 300 Minuten.

### Alkalische Phosphatase

Die zu Beginn des Versuchs gemessene mittlere AP-Serumkonzentration ist 139,7 ( $\pm 8,7$ ) U/l in der UW-, 85,7 ( $\pm 6,6$ ) U/l in der FU-, 100,0 ( $\pm 9,8$ ) U/l in der HTK- und 216,8 ( $\pm 27,6$ ) U/l in der Kaltlagerungsgruppe. Die statistische Prüfung mittels Kruskal-Wallis-Test ist bereits präoperativ signifikant ( $p < 0,01$ ). Im Student-Newman-Keils-Test bestehen präoperativ signifikante ( $p < 0,01$ ) Unterschiede zwischen der FU- und der UW-Gruppe sowie zwischen der HTK- und der UW-Gruppe ( $p < 0,05$ ) mit jeweils niedrigeren AP-Werten der FU- und der HTK-Gruppe. Weiterhin ergeben sich präoperativ signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$ ) zwischen der UW-, der FU- und der HTK-Gruppe im Vergleich mit der Kaltlagerungsgruppe mit einer geringeren mittleren AP-Serumkonzentration der UW-, der HTK- und der FU-Gruppe.

AP U/l/100g	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
0 min	5,285 ( $\pm 0,600$ ) <sup>°§</sup>	2,777 ( $\pm 0,481$ ) <sup>²#</sup>	1,886 ( $\pm 0,199$ ) <sup>°§</sup>	9,187 ( $\pm 1,039$ ) <sup>§#§</sup>
60 min	8,930 ( $\pm 0,753$ ) <sup>•³</sup>	4,536 ( $\pm 0,669$ ) <sup>³#</sup>	4,636 ( $\pm 1,002$ ) <sup>•*</sup>	10,381 ( $\pm 1,424$ ) <sup>#*</sup>
300 min	11,646 ( $\pm 0,810$ ) <sup>°²</sup>	7,415 ( $\pm 1,248$ ) <sup>²#</sup>	5,413 ( $\pm 0,937$ ) <sup>°*</sup>	11,013 ( $\pm 1,514$ ) <sup>*#</sup>
<sup>°</sup> $p < 0,01$ UW vs. HTK, <sup>•</sup> $p < 0,05$ UW vs. HTK, <sup>²</sup> $p < 0,05$ UW vs. FU, <sup>³</sup> $p < 0,01$ UW vs. FU, <sup>§</sup> $p < 0,01$ UW vs. Kalt. <sup>§</sup> $p < 0,01$ HTK vs. Kalt., <sup>*</sup> $p < 0,05$ HTK vs. Kalt., <sup>#</sup> $p < 0,01$ FU vs. Kalt.				

*Tabelle 10: Mittlere AP-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion*

Zu Beginn der Warmperfusion hat die HTK-Gruppe die niedrigsten AP-Werte, gefolgt von der FU- und der UW-Gruppe. Die Serumkonzentration der Kaltlagerungsgruppe ist am höchsten. Nach 60 Minuten Warmperfusion sind die AP-Werte in allen Gruppen angestiegen, mit niedrigster mittlerer Serumkonzentrationen in der FU-Gruppe, gefolgt von der HTK-Gruppe. In der Kaltlagerungsgruppe finden sich weiterhin die höchsten AP-Werte. Am Ende, nach 300 Minuten, hat die UW-Gruppe die höchsten Werte, die unwesentlich höher sind als die der Kaltlagerungsgruppe, während die HTK-Gruppe wie zu Beginn der Reperfusion die niedrigsten aufweist.

Der zu den Meßzeiten 0, 60 und 300 Minuten durchgeführte Kruskal-Wallis-Test ist signifikant ( $p < 0,01$ ). Der für die einzelnen Stichproben durchgeführte Student-Newman-

Keuls-Test ist zum Meßzeitpunkt 0 Minuten signifikant ( $p < 0,01$ ) mit niedrigeren Werten der HTK- und der Kaltlagerungsgruppe im Verhältnis zur UW-Gruppe und auch signifikant ( $p < 0,05$ ) zwischen der FU- und der UW-Gruppe mit geringerer mittlerer Serumkonzentration ersterer. Gleichzeitig ergeben sich signifikante ( $p < 0,01$ ) Unterschiede

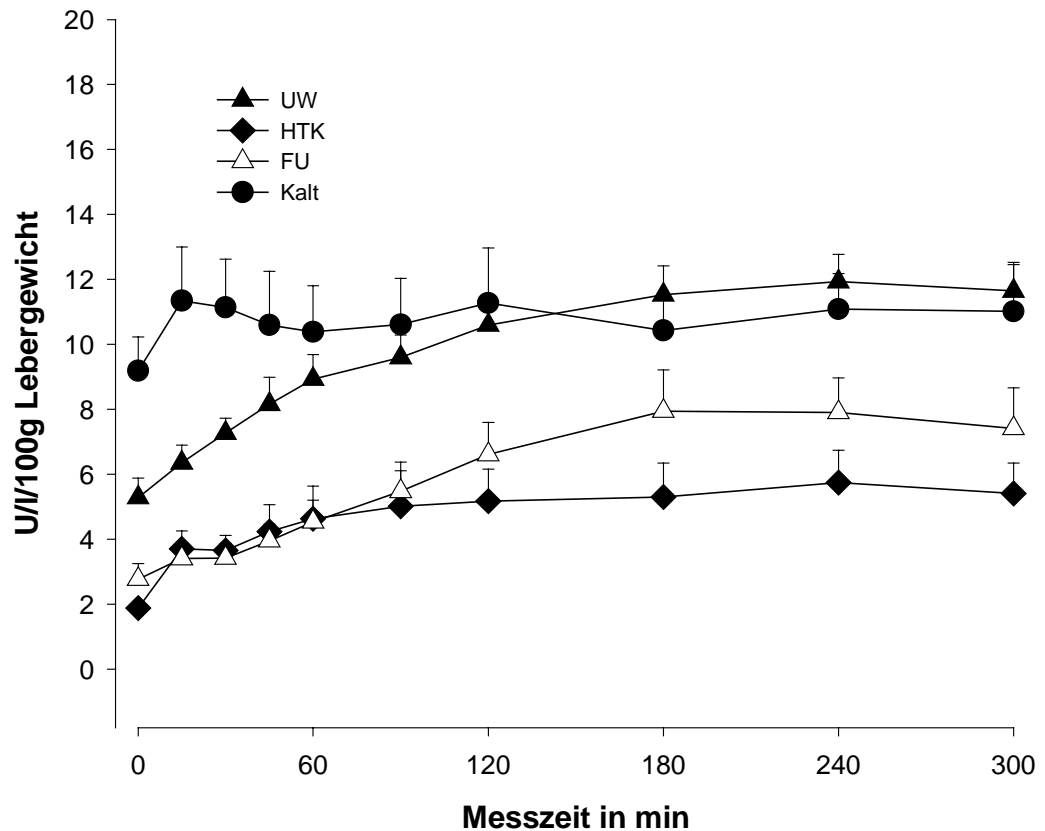


Abbildung 7: Mittlere AP-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf

mit geringeren AP-Werten der mit der FU- und der HTK-Lösung kontinuierlich perfundierten Lebern im Vergleich zu den kaltgelagerten Lebern. Nach 60 Minuten ergibt die statistische Prüfung ein schwach signifikantes Ergebnis ( $p < 0,05$ ) zwischen der HTK- und der UW-Gruppe sowie der HTK- und der Kaltlagerungsgruppe mit geringeren Meßwerten der erstgenannten Gruppe. Hoch signifikante ( $p < 0,01$ ) Unterschiede ergeben sich mit geringeren Meßwerten für die FU-Gruppe im Vergleich mit der UW- und der Kaltlagerungsgruppe. Zum Versuchsende nach 300 Minuten sind nur die Unterschiede zwischen der HTK- und der UW-Lösung hoch signifikant ( $p < 0,01$ ) mit geringeren AP-

Serumkonzentrationen der HTK-Gruppe. Schwach signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) ergeben sich zwischen der FU- und der UW- und der Kaltlagerungsgruppe, sowie der HTK- und der Kaltlagerungsgruppe mit niedrigeren AP-Werten der erstgenannten Gruppen.

Aus der Abbildung 7 ist ersichtlich, daß die UW-, die FU- und die HTK-Gruppe im Verlauf der Warmperfusion eine ansteigende Mittelwertskurve besitzen. Das Maximum wird nach ungefähr 240 Minuten erreicht. Der Verlauf der Kaltlagerungsgruppe ist annähernd konstant mit einem biphasischen Maximum nach 15 und 120 Minuten.

### Gesamtbilirubin

Die Messung des Gesamtbilirubins beträgt präoperativ 0,250 ( $\pm 0,092$ ) mg/dl für die UW-, 0,200 ( $\pm 0,026$ ) mg/dl für die FU-, 0,200 ( $\pm 0,045$ ) mg/dl für die HTK- und 0,267 ( $\pm 0,049$ ) mg/dl für die Kaltlagerungsgruppe. Die präoperativen Unterschiede sind nicht signifikant.

Zu Beginn der Warmperfusion hat die FU-Gruppe die niedrigste mittlere Gesamtbilirubin-Serumkonzentration, während die HTK-Gruppe die größte Konzentration an Bilirubin im Serum besitzt. Dies ist auch nach 60 und 300 Minuten der Fall. Die Werte der Kaltlagerungs- und der UW-Gruppe liegen dazwischen. Nach 60 Minuten Reperfusion ist der Bilirubin-Wert der UW-Gruppe am niedrigsten, dicht gefolgt von der FU- und der Kaltlagerungsgruppe. Am Ende der Warmperfusion nach 300 Minuten ist die Serumkonzentration in der FU-Gruppe wie bereits nach 0 Minuten am niedrigsten. Die AP-Werte der UW- und der Kaltlagerungsgruppe liegen nach 300 Minuten eng beieinander. Der Kruskal-Wallis-Test zeigt zu Beginn der Warmperfusion nach 0 Minuten

<b>Gesamtbilirubin</b> in mg/dl/100g	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
0 min	0,025 ( $\pm 0,007$ )	0,013 ( $\pm 0,002$ )*	0,033 ( $\pm 0,004$ )*	0,020 ( $\pm 0,003$ )
60 min	0,020 ( $\pm 0,003$ )	0,021 ( $\pm 0,004$ )	0,033 ( $\pm 0,004$ )	0,023 ( $\pm 0,005$ )
300 min	0,048 ( $\pm 0,015$ )	0,032 ( $\pm 0,004$ )	0,059 ( $\pm 0,016$ )	0,047 ( $\pm 0,012$ )
* $p < 0,01$ FU vs. HTK				

*Tabelle 11: Mittlere Gesamtbilirubin-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion*

ein signifikantes ( $p < 0,05$ ) Ergebnis. Die Testung der einzelnen Stichproben mit dem Student-Newman-Keuls-Test zu Beginn der Warmperfusion ist signifikant ( $p < 0,01$ ) mit niedrigeren Bilirubin-Werten der FU- im Vergleich mit der HTK-Gruppe.

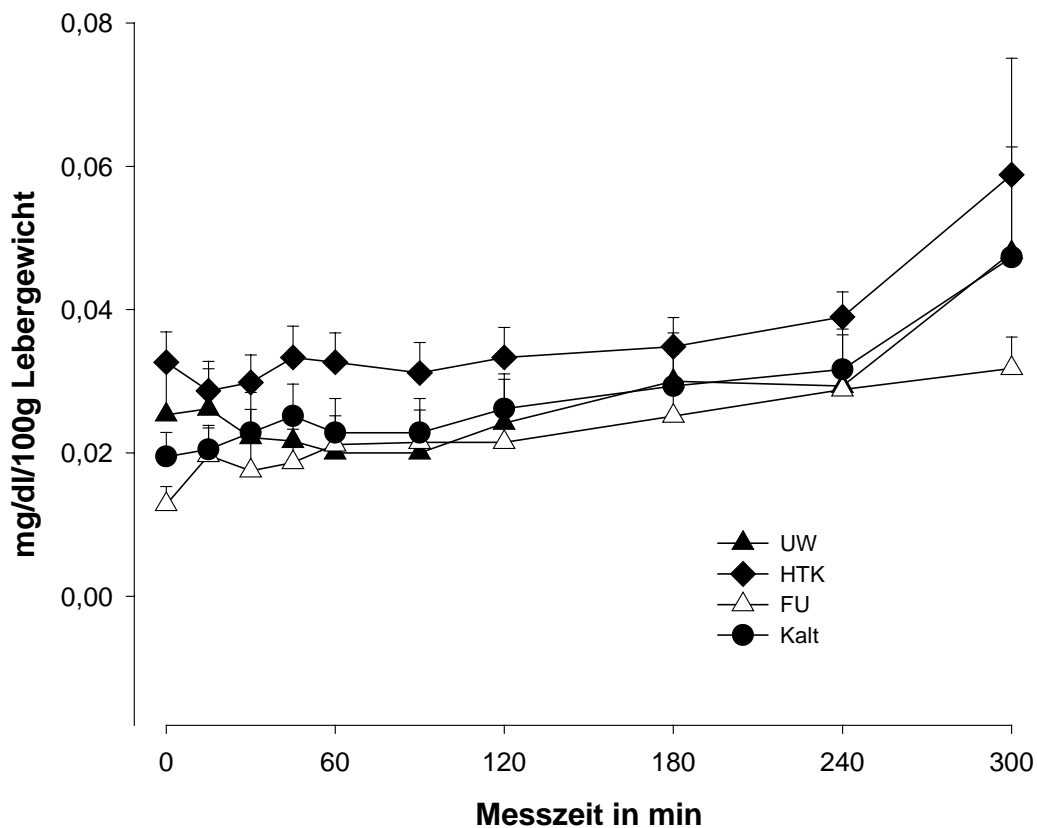


Abbildung 8: Mittlere Gesamtbilirubin-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppe während der Warmperfusion im Verlauf

Der Vergleich der Mittelwerte im Verlauf der Warmperfusion in der Abbildung 8 läßt erkennen, daß die HTK-Gruppe zu allen Meßzeitpunkten die höchste Gesamtbilirubinkonzentration aufweist, mit einem Maximum nach 300 Minuten. Die Konzentrationen der anderen Gruppen haben einen plateauartigen Verlauf mit ansteigender Tendenz zum Versuchsende mit einem Maximum nach 300 Minuten.

### PCHE

Die Maßeinheit für die PCHE ist präoperativ kU/l und umgerechnet auf das Organgewicht kU/l/100g Lebergewicht während der Warmperfusion. Die präoperativen PCHE-Werte

sind 0,353 ( $\pm 0,015$ ) kU/l in der UW-, 0,333 ( $\pm 0,022$ ) kU/l in der FU-, 0,318 ( $\pm 0,030$ ) kU/l in der HTK- und 0,362 ( $\pm 0,018$ ) kU/l in der Kaltlagerungsgruppe. Sie sind nicht signifikant.

Zu Beginn der Warmperfusion nach 0 Minuten hat die HTK-Gruppe den höchsten und die FU-Gruppe den niedrigsten PCHE-Wert. Die HTK-Gruppe besitzt auch nach 60 und 300 Minuten die höchste PCHE-Serumkonzentration, während die UW-Gruppe nach 60 Minuten und nach 300 Minuten die geringste PCHE-Konzentration aufweist.

Die statistische Prüfung mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests ergibt hoch signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$ ) nach 0 und 300 Minuten. Die Unterschiede nach 60 Minuten sind ebenfalls signifikant ( $p < 0,05$ ). Der Student-Newman-Keuls-Test ist zu Beginn der Warmperfusion nach 0 Minuten signifikant ( $p < 0,01$ ) mit einer niedrigeren mittleren PCHE-Serumkonzentration der UW- und der FU-Gruppe im Vergleich mit der HTK-Gruppe. Gleichzeitig zeigen sich signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) mit geringeren PCHE-Werten der UW- und der FU-Gruppe im Vergleich mit der Kaltlagerungsgruppe. Nach 60 Minuten bestehen signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) zwischen der UW- und der HTK-Gruppe, sowie zwischen der FU- und der HTK-Gruppe ( $p < 0,01$ ) mit niedrigeren Werten der erstgenannten Gruppen. Zum Ende der Warmperfusion lassen sich signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$ )

PCHE kU/l/100g	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
0 min	0,012 ( $\pm 0,001$ ) <sup>°#</sup>	0,011 ( $\pm 0,001$ )*\$	0,024 ( $\pm 0,002$ ) <sup>°*</sup>	0,019 ( $\pm 0,005$ )#§
60 min	0,015 ( $\pm 0,002$ ) <sup>•</sup>	0,017 ( $\pm 0,001$ )*	0,029 ( $\pm 0,003$ ) <sup>•*</sup>	0,022 ( $\pm 0,003$ )
300 min	0,019 ( $\pm 0,004$ ) <sup>°</sup>	0,023 ( $\pm 0,002$ )*	0,052 ( $\pm 0,007$ ) <sup>°*§</sup>	0,028 ( $\pm 0,003$ )§
<sup>°</sup> $p < 0,01$ UW vs. HTK, <sup>•</sup> $p < 0,05$ UW vs. HTK, <sup>#</sup> $p < 0,01$ UW vs. Kalt., <sup>*</sup> $p < 0,01$ FU vs. HTK, <sup>\$</sup> $p < 0,01$ FU vs. Kalt., <sup>§</sup> $p < 0,05$ HTK vs. Kalt.				

*Tabelle 12: Mittlere PCHE-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion*

zwischen der UW- und der HTK-Gruppe, sowie zwischen der FU- und der HTK-Gruppe nachweisen mit niedrigeren Werten für die UW- und die FU-Gruppe.



Die Abbildung 9 zeigt, daß die Mittelwertskurve der HTK-Gruppe im Vergleich den stärksten Anstieg über die 300 Minuten der Warmperfusion zeigt mit der höchsten PCHE-Serumkonzentration aller Gruppen nach 300 Minuten, gefolgt von der Kaltlagerungsgruppe.

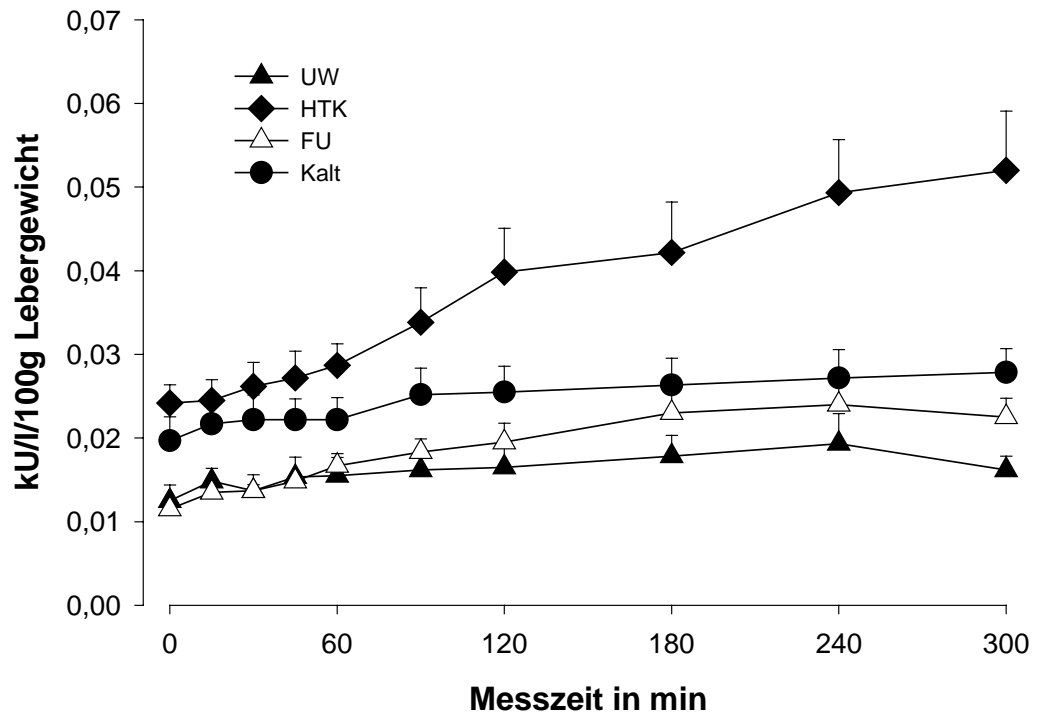


Abbildung 9: Mittlere PCHE-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf

Die mittlere Serumkonzentration der anderen Gruppen nimmt im Verlauf ebenfalls zu. Ab dem Meßzeitpunkt 45 Minuten bis zum Ende der Warmperfusion nach 300 Minuten besitzt die Mittelwertskurve der UW-Gruppe die niedrigsten Serumkonzentrationen. Die Mittelwertskurve der FU-Gruppe verläuft ab diesem Zeitpunkt zwischen der Mittelwertskurve der UW- und der Kaltlagerungsgruppe.

### Albumin

Präoperativ ergibt sich ein Mittelwert von 2,75 ( $\pm 0,11$ ) g/dl für die UW-, 3,10 ( $\pm 0,24$ ) g/dl für die FU-, 2,90 ( $\pm 0,18$ ) g/dl für die HTK- und 2,18 ( $\pm 0,07$ ) g/dl für die Kaltlagerungsgruppe. Diese Unterschiede sind bei Anwendung des Kruskal-Wallis-Test

signifikant ( $p < 0,01$ ). Die Kaltlagerungsgruppe besitzt präoperativ eine signifikant geringere ( $p < 0,01$ ) mittlere Albumin-Serumkonzentration als die UW- und die FU-Gruppe. Zusätzlich sind die Werte in der HTK-Gruppe signifikant kleiner ( $p < 0,01$ ) als in der FU-Gruppe. Zu Beginn der Warmperfusion nach 0 Minuten besitzt die Kaltlagerungsgruppe die höchsten Albumin-Werte, während sich bei den anderen Gruppen annähernd gleiche Konzentrationen messen lassen, mit den niedrigsten Werten in der HTK-Gruppe. Auch nach 60 und 300 Minuten finden sich in der Kaltlagerungsgruppe die höchsten Albumin-Werte. Bei den Messungen nach 60 und 300 Minuten hatte die FU-Gruppe die niedrigsten Werte. Der Kruskal-Wallis-Test ist zu keinem Meßzeitpunkt signifikant.

<b>Albumin</b> g/dl/100g	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
0 min	0,075 ( $\pm 0,014$ )	0,073 ( $\pm 0,021$ )	0,069 ( $\pm 0,006$ )	0,116 ( $\pm 0,013$ )
60 min	0,081 ( $\pm 0,013$ )	0,080 ( $\pm 0,012$ )	0,099 ( $\pm 0,007$ )	0,121 ( $\pm 0,013$ )
300 min	0,111 ( $\pm 0,023$ )	0,092 ( $\pm 0,014$ )	0,120 ( $\pm 0,009$ )	0,129 ( $\pm 0,012$ )
* $p < 0,05$ FU vs. Kaltlagerung				

*Tabelle 13: Mittlere Albumin-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion*

Der Abbildung 10 ist zu entnehmen, daß zu Beginn der Warmperfusion nach 0 Minuten alle Gruppen ihre minimale Albumin-Konzentration besitzen. Nach 15 Minuten Erwärmung zeigt sich ein erstes Maximum in allen Gruppen mit insgesamt weiter ansteigender Tendenz im Verlauf. Der Verlauf der Mittelwertskurve der Kaltlagerungsgruppe ist plateauförmig mit einem biphasischen Maximum nach 15 und nach 300 Minuten. Die mit FU- und HTK-Lösung konservierten Lebern haben ihr Maximum nach 240 Minuten und zeigen zum Versuchsende ein geringes Absinken auf niedrigere Meßwerte. Die mittlere Serumkonzentration der UW-Gruppe verläuft zwischen den Meßzeitpunkten 15 und 120 Minuten annähernd konstant mit danach ansteigenden Werten und der höchsten Konzentration zum Versuchsende.

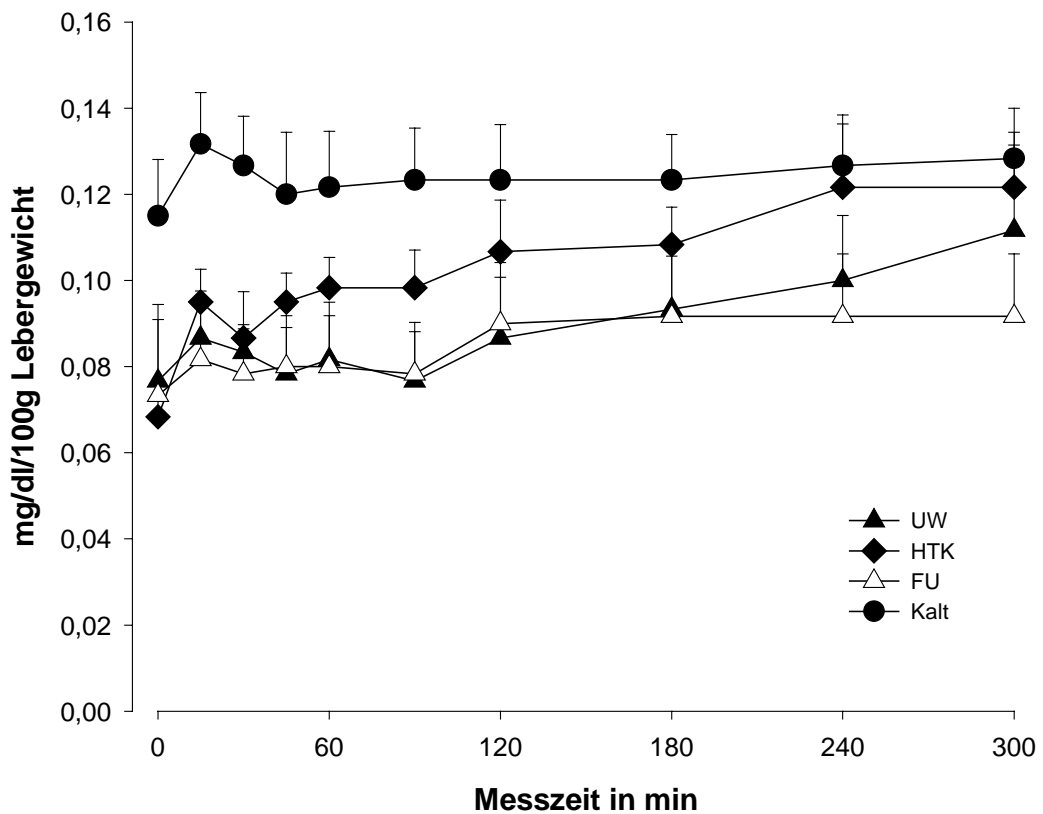


Abbildung 10: Mittlere Albumin-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf

### 3.2 Weitere Ergebnisse

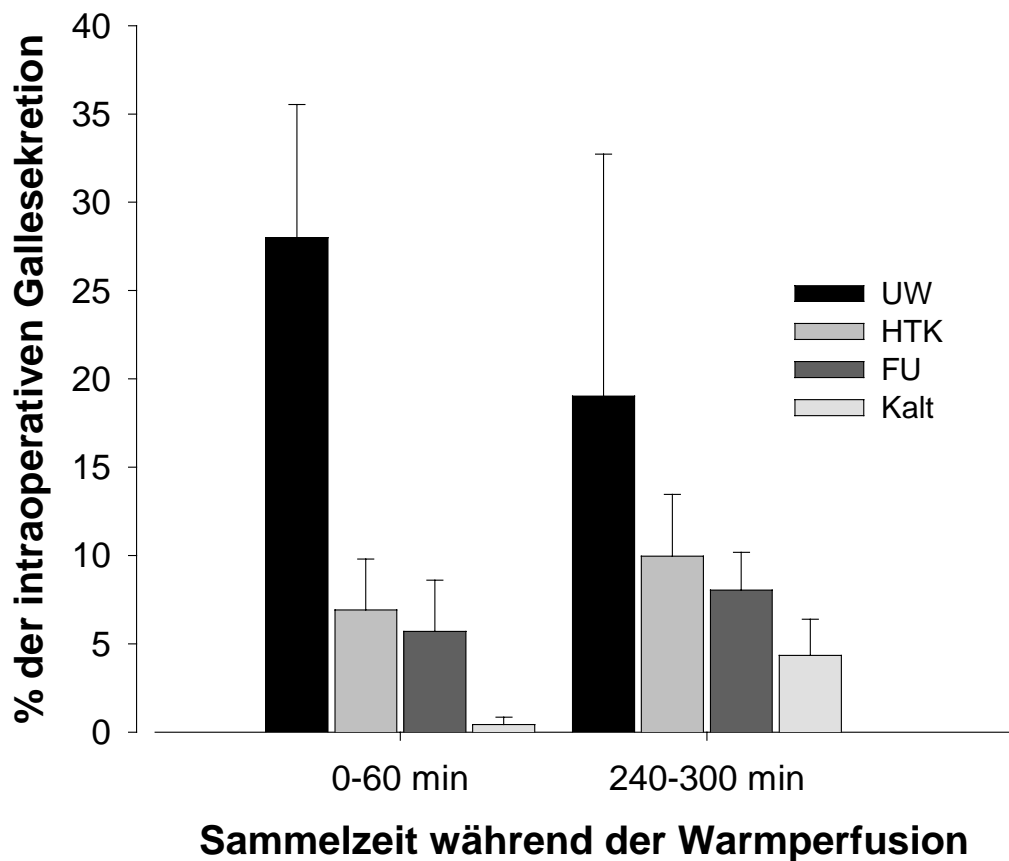
Zusätzlich zu den klinisch-chemischen Parametern wurde die Gallesekretion nach intraoperativer Kanülierung des Ductus choledochus bis zum Ende der Warmperfusion, die Gefäßwiderstände der Arteria hepatica communis während der Reperfusion, sowie die Lebergewichte postoperativ und nach Ende der Warmperfusion gemessen.

#### 3.2.1 Messung der Gallesekretion

Die intraoperative Gallesekretion beträgt  $1,28 (\pm 0,38)$  ml/h/100g Lebergewicht in der UW-,  $1,94 (\pm 0,25)$  ml/h/100g Lebergewicht in der FU-,  $1,39 (\pm 0,23)$  ml/h/100g Lebergewicht in der HTK- und  $2,46 (\pm 0,41)$  ml/h/100g Lebergewicht in der Kaltlagerungsgruppe. Der Vergleich dieser Werte mittels Kruskal-Wallis-Test ist nicht

<b>Gallesekretion</b>	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
%/h des intraop. Wertes				
0-60 Minuten	27,99 ( $\pm 7,54$ ) <sup>°</sup> $\$$ $\#$	5,70 ( $\pm 2,90$ ) $\$$	6,92 ( $\pm 2,89$ ) $\#$	0,43 ( $\pm 0,43$ ) <sup>°</sup>
240-300 Minuten	19,03 ( $\pm 13,69$ )	8,05 ( $\pm 2,14$ )	9,96 ( $\pm 3,51$ )	4,35 ( $\pm 2,05$ )
<sup>°</sup> p<0,01 UW vs. Kalt., $\$$ p<0,05 UW vs. FU, $\#$ p<0,05 UW vs. HTK				

*Tabelle 14: Mittlere Gallesekretion in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion in Prozent pro Stunde der intraoperativen Gallesekretion*



*Abbildung 11: Mittlere Gallesekretion in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion in Prozent pro Stunde der intraoperativen Gallesekretion*

signifikant. Die mit UW-Lösung kontinuierlich kaltperfundierten Lebern sezernieren während der ersten sechzig Minuten der Warmperfusion mehr Galle im Vergleich mit allen anderen Versuchsgruppen. In der Kaltlagerungsgruppe ist die Gallesekretion am geringsten, die Werte der FU- und HTK-Gruppe liegen eng beieinander. Insgesamt steigt die Gallesekretion in allen Gruppen während der Warmperfusion an, mit Ausnahme der UW-Gruppe, die ihr Maximum bereits in den ersten 60 Minuten der Warmperfusion erreicht mit einer abnehmenden Gallesekretion in der letzten Stunde. Die Anwendung des Kruskal-Wallis-Tests ergibt nur für die ersten 60 Minuten der Reperfusion signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$ ), die sich für die letzte Stunde der Warmperfusion nicht mehr nachweisen lassen. In den ersten 60 Minuten der Warmperfusion hat die UW-Gruppe eine signifikant höhere Gallesekretion im Vergleich mit der HTK- und der FU-Gruppe ( $p < 0,05$ ), sowie der Kaltlagerungsgruppe ( $p < 0,01$ ). Zusätzlich besitzen die FU- und die HTK-Gruppe eine signifikant höhere prozentuale Gallesekretion als die Kaltlagerungsgruppe ( $p < 0,05$ ).

Die graphische Darstellung der mittleren prozentualen Gallesekretion in Abbildung 11 verdeutlicht die anhand der Tabelle 8 beschriebenen Konstellationen in und zwischen den einzelnen Gruppen.

### **3.2.2 Messung des Gefäßwiderstandes der Arteria hepatica communis**

Während der Warmperfusion wurde kontinuierlich der arterielle Widerstand der Arteria hepatica communis der einzelnen Versuchstiere gemessen.

Der Mittelwert des arteriellen Widerstands schwankt in den einzelnen Gruppen in den ersten Minuten der Warmperfusion erheblich. Ein konstanter Verlauf stellt sich erst nach 15 Minuten ein. Hier haben die mit UW-Lösung perfundierten Lebern den geringsten und die kaltgelagerten Lebern den höchsten mittleren arteriellen Widerstand. Diese Unterschiede zeigen sich auch nach 60 Minuten. In der HTK- und der Kaltlagerungsgruppe kommt es in den ersten 60 Minuten zu einem deutlichen Anstieg des arteriellen Widerstandes. Im Verlauf sinkt der Widerstand in der HTK-Gruppe zum Versuchsende nach dem Maximum nach 60 Minuten. Kurz vor Ende der Reperfusion nach 270 Minuten finden sich in der UW-Gruppe die geringsten und in der Kaltlagerungsgruppe die höchsten Widerstände. Die UW-Gruppe zeigt über die gesamte Dauer der Warmperfusion einen annähernd konstanten Verlauf, ebenso die FU-Gruppe, jedoch auf höherem Niveau. Die arteriellen Widerstände der kaltgelagerten Lebern steigen während der ersten sechzig

Minuten der Warmperfusion an mit anschließend konstantem Verlauf. Der Kruskal-Wallis-Test ist nach 15 Minuten ( $p < 0,05$ ), 60 Minuten und 240 Minuten (jeweils  $p < 0,01$ ) signifikant. Im Student-Newman-Keuls-Test zeigen sich nach 15 Minuten Warmperfusion signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$ ) mit geringeren arteriellen Widerständen in der UW- im Vergleich mit der HTK- und der Kaltlagerungsgruppe.

<b>art. Widerstand</b> in Torrmin/l	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
15 min	296,3*§	372,7	418,6*	439,9§
60 min	288,7*§	348,8°§	574,8*°	616,7§§
270 min	296,0*§	346,0#	425,5§*•	617,6§#•
§ $p < 0,01$ UW vs. Kalt., * $p < 0,01$ UW vs. HTK, ° $p < 0,05$ FU vs. HTK, \$ $p < 0,01$ FU vs. Kalt., # $p < 0,05$ FU vs. Kalt., • $p < 0,05$ HTK vs. Kalt.				

*Tabelle 15: Mittlerer arterieller Widerstand in den einzelnen Gruppen nach 15, 60 und 300 Minuten während der Warmperfusion*

Diese Unterschiede lassen sich auch nach 60 und 270 Minuten ermitteln. Zusätzlich ergeben sich nach 60 Minuten signifikante Unterschiede mit geringeren arteriellen Widerständen in der FU- im Vergleich mit der HTK- ( $p < 0,05$ ) und der Kaltlagerungsgruppe ( $p < 0,01$ ). Kurz vor Ende der Reperfusion nach 270 Minuten sind die arteriellen Widerstände der FU- und der HTK-Gruppe signifikant geringer ( $p < 0,05$ ) als die der Kaltlagerungsgruppe.

### **3.2.3 Messung des Lebergewichts**

Die Gewichtszunahme in unseren Versuchsgruppen im Vergleich postoperativ versus nach Warmperfusion beträgt 22,8 ( $\pm 3,1$ ) % in der UW-, 19,0 ( $\pm 1,6$ ) % in der FU-, 51,0 ( $\pm 5,6$ ) % in der HTK- und 54,1 ( $\pm 4,5$ ) % in der Kaltlagerungsgruppe. Der Kruskal-Wallis-Test für mehrere unverbundene Stichproben ist signifikant ( $p < 0,01$ ) für die prozentuale Gewichtszunahme der Lebern in den einzelnen Gruppen. Im Vergleich der Gruppen mit Hilfe des Student-Newman-Keuls Tests ergeben sich signifikant ( $p < 0,01$ ) geringere Gewichtszunahmen in der UW- im Vergleich mit der HTK- und der Kaltlagerungsgruppe, sowie signifikant ( $p < 0,01$ ) geringere Gewichtszunahmen in der FU- im Vergleich mit der

HTK- und Kaltlagerungsgruppe.

<b>Lebergewicht</b> in g	UW	FU	HTK	Kaltlagerung
Postoperativ	907,5 (±81,3)	1323,7 (±112,8)	1258,5 (±79,7)	907,2 (±81,3)
nach Warmperfusion	1104,3 (±80,5)	1571,8 (±130,0)	1898,5 (±136,2)	1399,2 (±133,0)
Zunahme in %	22,8 (±3,1) <sup>°*</sup>	19,0 (±1,6) <sup>#§</sup>	51,0 (±5,6) <sup>°#</sup>	54,1 (±4,5) <sup>*§</sup>
°p<0,01 UW vs. HTK, *p<0,01 UW vs. Kalt., #p<0,01 FU vs. HTK, §p<0,01 FU vs. Kalt.				

*Tabelle 16: Mittleres Lebergewicht postoperativ und nach Warmperfusion, sowie mittlere prozentuale Gewichtszunahme in den einzelnen Gruppen*

## 4 Diskussion

Durch die Ausdehnung der sicheren Leberkonservierungszeit ist die humane Lebertransplantation zu einer semielektiven Therapieoption gereift. Zeitaufwendige split-liver Verfahren sind dadurch erst möglich geworden. Die initiale Nichtfunktion der transplantierten Leber ist jedoch weiterhin eine gefürchtete Komplikation. Dabei steigt das Risiko mit der Dauer der Organkonservierung. Eine Verbesserung der Organkonservierung muß deshalb zum einen dieses Risiko auch bei einer längeren Konservierungsdauer minimieren und zweitens die Konservierung von Organen ermöglichen, die bisher als nicht transplantabel eingeschätzt wurden. Die kontinuierliche Kaltperfusion ist als Konservierungsverfahren bisher kaum untersucht. Wir wollten mit unserer Untersuchung deshalb erstens die Hypothese prüfen, ob sich im Vergleich zu der derzeit klinisch etablierten Kaltlagerung mit einer kontinuierlichen Perfusion über mehr als 40 Stunden mit anschließender Warmperfusion ein geringerer Konservierungsschaden ausbildet. In unserem ex-vivo Modell an der isolierten Schweineleber konnten wir zeigen, daß die Langzeitkonservierung der Leber mittels kontinuierlicher Kaltperfusion mit der Maschinen-UW-Lösung der Kaltlagerung in Belzer-UW-Lösung überlegen ist.

Zweitens sollte geprüft werden, ob mit unserer Versuchsanordnung eine Qualitätsbeurteilung des Organs ex-vivo ohne Transplantation gelingt. Im Vergleich der vier verschiedenen untersuchten Versuchsgruppen zeigten sich reproduzierbare biochemische Unterschiede, die zum Teil signifikant waren. Dies zeigt, daß eine Abschätzung des Konservierungsschadens ex-vivo möglich erscheint.

Zuletzt sollte die Frage beantwortet werden, ob unser Versuchssystem tauglich ist, eine bisher unbekanntة Konservierungslösung, die vorher nur in Zellkultur bzw. am Nager untersucht wurde, ohne Transplantationsversuch verläßlich zu testen. Wir konnten für die Gerlach-FU-Lösung im Rahmen unserer Experimente reproduzierbare Ergebnisse ermitteln, die eine zur kontinuierlichen Perfusion mit UW-Lösung ähnliche Konservierungsgüte annehmen lassen. Somit erscheint das System geeignet, weitere Konservierungslösungen, die vorher nur in der Zellkultur bzw. am Nager erprobt wurden, im Vergleich zu etablierten Lösungen zu testen.



## 4.1 Wertigkeit der klinisch-chemischen Parameter

### GOT und GPT

GOT und GPT sind laborchemisch einfach zu bestimmen und haben sich zur quantitativen Einschätzung des ischämischen Konservierungsschadens und der initialen Nichtfunktion der implantierten Leber bewährt (Gubernatis 1990, Lerut 1990). Niedrige Konzentrationen an GOT und GPT sind Zeichen eines geringeren hepatozellulären Konservierungsschadens und einer besseren Organfunktion nach Reperfusion (Ontell 1988). Die Höhe der GOT korreliert dabei mit dem Ausmaß der Nekrose der Hepatozyten (Bao 1994, Rauen 1994). Dies konnte tierexperimentell an der isoliert perfundierten Leber bestätigt werden (Bell 1993, Tokunaga 1991b). Somit ist es anhand der Bestimmung der GOT und GPT möglich, das Ausmaß der Schädigung der Hepatozyten in den einzelnen Gruppen abzuschätzen.

Es ergaben sich in den einzelnen Gruppen signifikante Unterschiede für GOT und GPT. Die kaltgelagerten Lebern dienten als Kontrollgruppe. Am Ende der Kaltkonservierung bzw. zu Beginn der Reperfusion ergaben sich schwach signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) für die GOT und stark signifikante Unterschiede ( $p < 0,01$ ) für die GPT mit geringeren Serumkonzentrationen für die mit Maschinen-UW-Lösung kontinuierlich kaltperfundierten Lebern im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Diese Unterschiede ließen sich auch nach 60 Minuten der Reperfusion nachweisen. Am Ende der Reperfusion zeigten sich zwar höhere Konzentrationen für die Kaltlagerungsgruppe, diese Unterschiede waren aber nicht signifikant. Ungeklärt bleibt, ob am Ende der Reperfusion in beiden Gruppen eine so ausgedehnte Nekrose des Leberparenchyms vorliegt, so daß ein weiterer Anstieg der Serumkonzentrationen der GOT und GPT nicht möglich ist. Weiterhin läßt sich nicht klären, ob die fehlenden statistischen Unterschiede am Ende der Reperfusion Ausdruck eines noch vorhandenen Regenerationspotentials sind. Dann würden die durch die Kaltlagerung initial stärker geschädigten Lebern eine der kontinuierlichen Perfusion vergleichbare Langzeitfunktion ermöglichen. Eine klinische Studie, bei der fünfzig Prozent der transplantierten Lebern trotz hoher postoperativer GOT- und GPT-Serumkonzentrationen über 2500 U/l eine gute Langzeitfunktion aufwiesen, könnte dafür ein Hinweis sein (Katz 1994). Zusätzlich würde dies den Beobachtungen einiger Autoren entsprechen, die tierexperimentell eine Kaltlagerung über achtundvierzig Stunden realisieren konnten (Jamieson 1988a). Dagegen spricht, daß in verschiedenen experimentellen Modellen, in denen einer kontinuierlichen Perfusion oder Kaltlagerung

über zweiundsiebzig bzw. achtundvierzig Stunden eine Replantation folgte, GOT und GPT erst ein bis zwei Tage postoperativ maximale Serumkonzentrationen erreichten und sich in den folgenden fünf Tagen normalisierten (van Gulik 1990). Mit einer Reperfusion über dreihundert Minuten kann somit nicht das gesamte Ausmaß des Reperfusionsschadens erfaßt werden. Vielmehr wäre bei einer Verlängerung der Reperfusion ein weiterer Anstieg der Transaminasen zu erwarten mit einem Maximum nach ein bis zwei Tagen.

In einer zukünftigen Untersuchung sollte mit einem länger gewählten Konservierungszeitraum die Frage beantwortet werden, ob unser Kaltkonservierungszeitraum zu kurz gewählt war, um in den einzelnen Gruppen einen verschieden stark ausgeprägten Konservierungsschaden zu erzeugen.

Zu allen Zeitpunkten der Reperfusion ergaben sich für die GOT ( $p < 0,01$ ) und die GPT stark signifikante Unterschiede zwischen der UW- und der HTK-Gruppe mit niedrigeren Werten für die UW-Gruppe. Bezogen auf die klassischen Nekroseparameter bietet die kontinuierliche Kaltperfusion mit Maschinen-UW-Lösung eine bessere Leberkonservierung als die kontinuierliche Kaltperfusion mit HTK-Lösung. Bei einem Vergleich anhand der isoliert perfundierten Leber hatten die in UW-Lösung über 48 Stunden gelagerten Lebern einen geringeren Konservierungsschaden (Adham 1997, den Butter 1995). Im Rattentransplantationsmodell konnte eine sichere Kaltlagerungszeit mit der HTK-Lösung bis 24 Stunden erreicht werden. Eine Konservierung über diesen Zeitraum war nicht möglich (van Gulik 1993, van Gulik 1994). In einer neueren prospektiven Studie, die klinisch den Einsatz der HTK- mit der UW-Lösung verglich, fanden sich bei einer Konservierungszeit von bis zu fünfzehn Stunden keine signifikanten Unterschiede (Erhard 1994). Somit ist die HTK-Lösung für Konservierungszeiträume unter vierundzwanzig Stunden geeignet.

Der Vergleich der mit FU-Lösung kontinuierlich kaltperfundierten Organe mit der UW-Gruppe läßt unter Heranziehung der GOT- und GPT-Serumkonzentration ein ähnliches Ausmaß des Konservierungsschadens annehmen.

Eine Aussage über eine mögliche Wiederaufnahme der Organfunktion und damit über eine initiale Nichtfunktion nach Reperfusion ist mit unserem Versuchsmodell nicht möglich. Hierzu müßte die ex-vivo Reperfusion mit einer nach Kaltkonservierung durchzuführenden Transplantation verglichen werden. In konnte mit solch einem Modell zeigen, daß die Bestimmung der Serumkonzentrationen von GOT und LDH im zirkulierenden Reperfusat

geeignet erscheinen, eine Aussage über die Aufnahme der Organfunktion auch ohne Implantation zu ermöglichen (Iu 1987).

### AP, GGT und Bilirubin

Die AP ist in der Langzeitkonservierung erst wenig untersucht bzw. häufig werden die Ergebnisse nicht mitgeteilt. Im Rattenmodell ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen präoperativer Bestimmung und nach Kaltlagerung feststellen (Matsui 1994). Jedoch betrug die Konservierungszeit vor Implantation nicht mehr als 90 Minuten, und eine kontinuierliche Perfusion wurde nicht durchgeführt. Auch nach einer Kaltlagerung über 50 bis 150 Minuten in Ringer-Lösung und anschließender Reperfusion der Leber mit Eigenblut über drei Stunden wurden keine Veränderungen der AP und des Bilirubins beobachtet (Yanaga 1990).

Zwischen den einzelnen Gruppen bestanden bereits präoperativ signifikante Unterschiede. Dabei lagen die Mittelwerte der einzelnen Gruppen zwischen 85,7 ( $\pm 6,6$ ) U/l in der FU- und 216,8 ( $\pm 27,6$ ) U/l in der Kaltlagerungsgruppe. In diesem Zusammenhang ist die Einordnung der im Verlauf zum Teil signifikanten Unterschiede nur begrenzt möglich. Die präoperativen und zu Beginn der Reperfusion gemessenen Serumkonzentrationen der AP waren in der Kontrollgruppe signifikant höher ( $p < 0,01$ ) als in den anderen Gruppen. Nach 60 und 300 Minuten Reperfusion ließen sich nur noch Unterschiede zur FU- und zur HTK-Lösung nachweisen. Es zeigten sich über die gesamte Versuchsdauer signifikante Unterschiede mit geringeren Serumkonzentrationen in der UW-Gruppe im Vergleich mit der FU- und der HTK-Gruppe. Trotz dieser Unterschiede blieb die AP in allen Gruppen und an allen Meßzeitpunkten im Referenzbereich (Plonait und Bickhardt 1988)

Interessant ist die Beobachtung, daß die AP-Serumkonzentration bei Umrechnung auf U/l zu Beginn der Warmperfusion im Vergleich mit den präoperativen Werten in allen Gruppen geringer ist. Bis zum Versuchsende werden die Ausgangskonzentrationen in der UW-Gruppe zu 86,3%, in der FU-Gruppe zu 114,0%, in der HTK-Gruppe zu 68,1% und in der Referenzgruppe zu 46,2% erreicht. Dabei ist der Anstieg während der Warmperfusion in den kaltperfundierten Gruppen größer als in der Kaltlagerungsgruppe. Die resultierende Frage bleibt offen, weshalb einige Versuchsgruppen mehr und andere weniger ihren präoperativen Ausgangswert erreichen. Die geringen Konzentrationen zu Beginn der Warmperfusion lassen sich möglicherweise mit einer Verminderung des Metabolismus während der Kaltkonservierung durch die Hypothermie mit einer geringeren Synthese und

Sekretion des Enzyms in den extrazellulären Raum erklären. Die signifikanten Unterschiede mit höheren Werten der Kontrollgruppe zu Beginn der Warmperfusion könnte durch ein wash out der Leber durch die Konservierungslösungen in den kontinuierlich kaltperfundierten Gruppen bedingt sein, welches eine Erniedrigung der Serumkonzentration nach sich zieht. Dieser Ausspüleffekt müßte jedoch auch die anderen bestimmten klinisch-chemischen Parameter betreffen und es ist schwer vorstellbar, weshalb sich ein Ausspülen der Organe mit Ablassen der Lösungen zu Beginn der Warmperfusion stärker auf die AP-Serumkonzentrationen als beispielsweise auf die Transaminasen auswirken sollte.

Für die GGT läßt sich ebenfalls beobachten, daß die Werte bei Umrechnung auf U/l zu Beginn der Warmperfusion im Vergleich mit den präoperativen Werten in den kaltperfundierten Gruppen geringer sind. Analog zur AP wurden auch hier im Verlauf der Warmperfusion die präoperativen Ausgangswerte erreicht und zum Teil in den einzelnen Gruppen übertroffen (UW-Gruppe zu 146,9%, FU-Gruppe zu 147,3%, HTK-Gruppe zu 188,6% und die Kontrollgruppe zu 101,6%). Auch hier ist wie bei der AP der Anstieg in den kaltperfundierten Gruppen größer als in der Kontrollgruppe. Sie bleiben dabei aber im Referenzbereich oder waren grenzgradig erhöht.

Die Bestimmung des Gesamtbilirubins eignete sich in unserem Versuchsmodell nicht zur Differenzierung der Güte der Organkonservierung in den einzelnen Gruppen. In allen Versuchsgruppen kam es zum Versuchsende zu einem leichten Anstieg mit einer leicht pathologischen Gesamtbilirubinserumkonzentration. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen traten nur sporadisch auf und ließen keine Regelmäßigkeit erkennen.

Insgesamt gesehen zeigen die Ergebnisse der Alkalischen Phosphatase, der GGT und des Gesamtbilirubins die Intaktheit der extra- und intrahepatischen Gallenwege an, ohne eine zweifelsfreie Abschätzung des Konservierungsschadens zu ermöglichen. Es kann jedoch festgehalten werden, daß in der kanalikulären Hepatozytenmembran lokalisierte Enzyme durchaus zur Abschätzung des Konservierungsschadens geeignet sind, wie Untersuchungen anhand der 5'-Nucleotidase zeigen konnten (van Gulik 1994).

#### PCHE und Albumin

Wenn man postuliert, daß eine hohe Serumkonzentration an PCHE und Albumin mit einer besseren Organkonservierung einhergeht, dann stehen die Ergebnisse der PCHE im Widerspruch zu den ermittelten Ergebnissen der GOT und GPT. Die mit HTK-Lösung

konservierten Lebern haben nach der Konservierung und während der Reperfusion signifikant höhere PCHE-Serumkonzentrationen im Vergleich mit den mit UW- und FU-Lösung kontinuierlich perfundierten Organen. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß die zu Beginn der Reperfusion signifikant erhöhten GOT- und GPT-Serumkonzentrationen im Vergleich mit der UW- und der FU-Gruppe für eine nekrosebedingte Erhöhung in der HTK-Gruppe sprechen. Danach ist eine höhere lebereigene Syntheseleistung der HTK- und der Referenzgruppe nach 44 Stunden Kaltkonservierung nicht vorstellbar. Dies deckt sich mit verschiedenen Untersuchungen, die für eine Kaltlagerung mit der HTK-Lösung eine maximale Konservierungszeit von 24 Stunden erzielen konnten (van Gulik 1993, van Gulik 1994). Möglicherweise ist der Konservierungsschaden in der HTK- und der Kontrollgruppe so ausgeprägt, daß bereits vorher synthetisierte, intrazellulär deponierte und noch nicht sezernierte Proteine durch die Nekrose in den Extrazellulärraum freigesetzt werden.

Für die Albumin-Konzentration ergaben sich im Gegensatz zur PCHE keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Dies ist möglicherweise mit der langen Halbwertszeit des Albumins zu erklären. Zu erwähnen ist jedoch, daß auch die PCHE eine Halbwertszeit von zehn Tagen besitzt. Zusammenfassend eignen sich PCHE und Albumin nicht die signifikanten Unterschiede der Transaminasen, welche zur Abschätzung des hepatischen Konservierungsschadens etabliert sind, zu untermauern.

## **4.2 Weitere Parameter**

### Gallesekretion

Die Gallesekretion ist ein Indikator für die Güte der Stoffwechselaktivität der Leber. Nur intakte Hepatozyten sind in der Lage eine ausreichende Gallesekretion zu erreichen. In der klinischen Lebertransplantation ist die Wiederaufnahme der Gallesekretion nach Reperfusion des Organs ein wichtiger Marker zur Beurteilung der Organfunktion (Kamiike 1988). Dabei sind die Menge und die Farbe der Gallesekretion entscheidend (Matsui 1994). Dies gilt auch für das Modell der isoliert perfundierten Leber (Adham 1997, Bowers 1987). Anhand dessen konnte gezeigt werden, daß das Ausmaß der Reduktion der Gallesekretion mit dem Grad der Leberzellschädigung einhergeht (Ackerman 1966). Bereits intraoperativ gab es signifikante Unterschiede mit einer höheren Gallesekretion der Referenzgruppe im Vergleich mit der UW- und der FU-Gruppe. Während keine kaltgelagerte Leber während der Organkonservierung Galle produzierte, wurde in den

Perfusionsgruppen ein wasserklares Sekret drainiert. Hierbei handelt es sich um ein Transsudat, welches durch Filtration des zirkulierenden Kaltperfusats in die Gallengänge während der Kaltperfusion entsteht (Mieny 1968). Die Messung der Gallesekretion während der Warmperfusion war in den ersten 60 Minuten in der UW-Gruppe signifikant höher als in allen anderen Gruppen. Dies spricht für eine bessere Kaltkonservierung durch die kontinuierliche Kaltperfusion im Vergleich mit der Standardkaltlagerung. Diese Unterschiede bestehen bis zur letzten Stunde, sind zu diesem Zeitpunkt aber nicht mehr signifikant. Im Vergleich mit den Transaminasen zeigt sich ein Trend, wobei eine geringere Gallesekretion mit einer höheren Serumkonzentrationen an GOT und GPT einhergeht. Dies konnten andere ebenfalls beobachten (Ontell 1988). Offen bleibt die Frage, ob die der HTK-Gruppe vergleichbare mäßige Gallesekretion in der FU-Gruppe eher das Ausmaß des Kaltkonservierungs- und Reperfusionsschadens beschreibt als die klassischen Nekrosemarker, da diese durch das Freispülen mit Lösung C vor Beginn der Reperfusion beeinflusst sein könnten.

#### *Gefäßwiderstand der Arteria hepatica communis*

Die Schädigung der Sinusendothelien während der Reperfusion hat einen entscheidenden Einfluß auf die Schädigung der Mikrozirkulation und damit auf das Ausmaß des gesamten Konservierungsschadens (McKeown 1988). Je stärker diese Schädigung ausgeprägt ist, desto geringer ist die gemessene Leberperfusion nach Reperfusion (Klar 1997). Dies bedeutet, da sich der arterielle Fluß aus dem Quotienten des arterieller Drucks und des arteriellen Widerstands zusammensetzt, daß je höher der arterielle Widerstand, desto höher muß der von den Rollerpumpen aufgebrauchte Druck sein, um den arteriellen Fluß konstant zu halten. Ein geringerer arterieller Widerstand während der Warmperfusion ist somit Ausdruck eines geringeren Reperfusionsschadens (Yamamoto 1991). Ein hoher Widerstand ist ein Indikator einer stärkeren Schädigung der Sinusendothelien mit Verlegung der Strombahn und Einschränkung der Gefäßregulation.

Wenn man die Widerstände mit den Transaminasen und der Gallesekretion vergleicht, läßt sich feststellen, daß die mit UW-Lösung kontinuierlich perfundierten Lebern die geringsten Konzentrationen an GOT und GPT, die höchste Gallesekretion und die geringsten arteriellen Widerstände während der Warmperfusion besitzen. Im Vergleich dazu zeigt die Referenzgruppe signifikant höhere arterielle Widerstände, höhere GOT- und GPT-Werte und eine geringere Gallesekretion, mit zu Beginn der Warmperfusion

signifikanten Unterschieden. Dies bestärkt die Annahme, daß eine kontinuierliche Kaltperfusion einer traditionellen Kaltlagerung überlegen ist. Der Verlauf des arteriellen Widerstands der Arteria hepatica comm. in der FU-Gruppe ist ähnlich der in der UW-Gruppe, was in Einklang zu GOT und GPT steht und die Wertigkeit der geringeren Gallesekretion in der FU-Gruppe in Frage stellt.

#### Lebergewicht postoperativ und nach Warmperfusion

Ein wichtiges Ziel einer Konservierungslösung ist die Minimierung des durch Hypothermie induzierten Zell- und Gewebsödems (Belzer 1988), welches besonders während der Reperfusion zu einer Schädigung der Mikrozirkulation führt. Durch die Verminderung des Zellödems nach Reperfusion durch den Einsatz der UW-Lösung konnte bei der humanen Lebertransplantation beispielsweise die Häufigkeit der Thrombose der Arteria hepatica communis reduziert werden (Todo 1989, Belzer 1988). Bei der Langzeitkonservierung der Leber mit UW-Lösung über vierundzwanzig Stunden nimmt der Gewebswassergehalt während der Kaltkonservierung kontinuierlich ab. Bei der HTK-Lösung bleibt er während der Kaltkonservierung konstant (Steffen 1990, Steininger 1991). Während der anschließenden Warmperfusion kommt es zu einem signifikanten Anstieg des Gewebswassergehaltes beider Lösungen im Vergleich mit den Ausgangswerten. Die zunehmende Reduktion des Wassergehalts während der Kaltkonservierung bewahrt die mit UW-Lösung konservierten Lebern nicht vor einem intrazellulären Ödem bei Reperfusion (Bell 1993). In unseren Versuchsgruppen kam es zu einer Gewichtszunahme im Vergleich Hepatektomie versus Ende der Warmperfusion um 22,8 ( $\pm 3,1$ ) % in der UW-, 19,0 ( $\pm 1,6$ ) % in der FU-, 51,0 ( $\pm 5,6$ ) % in der HTK- und 54,1 ( $\pm 4,5$ ) % in der Kaltlagerungsgruppe, die ein unterschiedliches Ausmaß des postischämischen Ödems reflektiert. Dies hat eine unterschiedliche Verteilung des Blutflusses in den Sinusoiden mit anschließender fokaler Leberzellnekrose zur Folge (Shibayama 1991). Es besteht während der Warmperfusion ein Trend zwischen einer stärkeren Gewichtszunahme mit einem geringeren arteriellen Widerstand, einer höheren Serumkonzentration an GOT und GPT und einer höheren Gallesekretion im Vergleich der Versuchsgruppen. Auch bei der Zunahme des Lebergewichts befinden sich FU- und UW-Gruppe auf ähnlichen Niveau, was als weiteres Indiz dafür gewertet werden kann, daß die alleinige Betrachtung der Gallesekretion nicht ausreicht, um den Konservierungsschaden abzuschätzen.

### 4.3 Eingesetzte Konservierungslösungen

#### Flush

Die Flush-Konservierung der Arteria hepatica communis nach Präparation der Lebergefäße erfolgte mit einem Liter UW-Lösung über eine Druckmanschette mit 180 mmHg. Dies geschah mit der Erwartung, daß das Freispülen der Arterie mit einer höheren Flußgeschwindigkeit einen positiven Einfluß auf das Ausmaß des Konservierungsschadens durch ein komplettes wash out der Leber hat (Blumhardt 1993). Die durch hohe Flußgeschwindigkeiten bei der Flush-Konservierung gefürchtete Schädigung der Sinusendothelien konnte morphometrisch nicht bestätigt werden (Aminalai 1992).

#### UW-, HTK-Lösung und Kaltlagerung

Wir haben die Kaltperfusion in der UW-Gruppe mit einer modifizierten UW-Lösung, daß heißt mit inversem Natrium-Kalium-Verhältnis und der Verwendung von Gluconat anstelle von Laktobionat durchgeführt. Diese Lösung wurde erfolgreich zur Langzeitperfusion der Niere über fünf Tage eingesetzt (McAnulty 1989). Mit einer inversen Kalium-Natrium Relation lassen sich bei der humanen Lebertransplantation nach der Reperfusion der unerwünschte kardioplegische Effekt und das Risiko von Vasospasmen mit systemischer arterieller Hypotension minimieren. Durch den geringeren vasokonstringierenden Kalium-Effekt ist zusätzlich ein schnelleres Freispülen während der Flush-Konservierung durchführbar (Marshall 1990). Ein hoher Kalium-Gehalt scheint einen geringeren Effekt auf das intrazelluläre Ödem zu haben als früher angenommen. Vielmehr erscheinen andere Inhaltsstoffe der UW-Lösung, wie z.B. Laktobionat und Raffinose wichtiger in der Prävention eines Zellödems (Belzer 1988, Sumimoto 1990). Dies ließ sich auch an isolierten Hepatozyten-Adhäsionskulturen bestätigen (Klöppel 1994). Mehrere Arbeitsgruppen konnten für die Kaltlagerung keine signifikanten Unterschiede der Ausprägung des Konservierungsschadens im Vergleich dieser mit der üblichen Elektrolyt-Relation der UW-Lösung zeigen (Howden 1992, Marshall 1990, Moen 1989, Wicomb 1990).

Die vergleichbaren geringeren GOT- und GPT-Serumkonzentrationen der mit der FU- und der mit Maschinen-UW-Lösung perfundierten Lebern sind ein weiteres Argument gegen die Bedeutung des Elektrolytverhältnisses der Standard-UW-Lösung.

Die geringere Lebergewichtszunahme in der UW- und der FU-Gruppe als Ausdruck eines



geringeren Zellödems sprechen ebenfalls gegen die Relevanz der Elektrolytzusammensetzung der Standard-UW-Lösung. Eine histopathologische Untersuchung der von uns konservierten Organe mit dem Nachweis einer geringeren intrazellulären Flüssigkeitsretention könnte dies untermauern. Pienaar et al. kamen in einer Studie zu einem entgegengesetzten Resultat (Pienaar 1990). In dieser experimentellen Langzeitperfusionstudie wurden in die Gruppe der inversen Elektrolyt-Relation aber nur zwei Versuchstiere eingeschlossen. Statistische Aussagen mit allgemeiner Gültigkeit sind deshalb begrenzt. Zudem spielt sicherlich auch die speziesspezifische Sensibilität zu den verschiedenen Schädigungsmechanismen während der Organkonservierung eine Rolle. Viele im Rattenmodell gewonnene Erkenntnisse lassen sich nicht ohne weiteres auf Hunde, Schweine und Menschen übertragen.

Der Vorteil einer kontinuierlichen Perfusion mit der UW-Lösung konnte im Vergleich mit der Kaltlagerung über zweiundsiebzig Stunden tierexperimentell bestätigt werden. Hierbei wurde eine höhere Konzentration an Adeninnukleotiden der perfundierten Lebern als Ausdruck eines besseren Energiegleichgewichts der Hepatozyten dokumentiert (Yamamoto 1991). Dabei finden während der hypothermen kontinuierlichen Perfusion weniger energieverbrauchende Reaktionen statt und es fallen weniger zu verstoffwechselnde Endprodukte an als bei einer einfachen Kaltlagerung (Kamiike 1988, Lanir 1988). Interessanterweise wurde einer reinen Oxygenierung wie in unserem und anderen Modellen (Pienaar 1990) hier ein Fluorcarbon-Zusatz zum Blut als Sauerstoffträger während der Reperfusion der Vorzug gegeben. Eine neuere Studie zeigte beim Vergleich einer kontinuierlichen Perfusion über vierundzwanzig Stunden mit der Kaltlagerung sogar eine Zunahme von ATP bei annähernd stabilen Laktat- und Glycogenkonzentrationen (Dutkowski 1998).

#### FU-Lösung

Eine Sonderstellung nimmt die FU-Lösung ein, da hier zusätzlich zu dem initialen Flush nach Hepatektomie mit Lösung A und der Kaltkonservierung mit Lösung B am Ende der Kaltperfusion vor Gabe des intraoperativ gewonnenen Eigenblutes eine Freispülung des Organs in der Perfusionskammer mit Lösung C erfolgte. Diese Konservierungslösung besitzt wie die von uns getestete Maschinen-UW-Lösung ein extrazelluläres Elektrolytverhältnis. Als Impermeant wird Sucrose anstelle von Raffinose verwandt. Mit einer Lösung, die auf den gleichen Prinzipien basiert ließen sich für die Kaltlagerung im

Rattenmodell bessere Ergebnisse erzielen als mit der Standard-UW-Lösung (Tokunaga 1991a). Eine andere Arbeitsgruppe konnte am Hundetiermodell diese Ergebnisse nicht bestätigen (Zhu 1993).

Möglicherweise sind die signifikanten Unterschiede der GOT- und GPT-Serumkonzentrationen zu Beginn der Reperfusion im Vergleich mit der HTK-Lösung und der Kaltlagerung durch das zusätzliche Freispülen mit der Gerlach-FU-Lösung C beeinflusst. Das Effluat wurde nicht analytisch untersucht. Deshalb muß eine abschließende Beantwortung der Frage ausbleiben. Es gibt jedoch Hinweise, daß solch ein Freispülen mit erheblichen Mengen an Enzymverlust durch das Effluat verbunden ist (Rauen 1994). Dabei können die Viskositätsunterschiede der einzelnen Konservierungslösungen Unterschiede im wash out produzieren, die über die tatsächliche Schädigung der Leber keine verlässliche Aussage ermöglicht. Fraglich ist allerdings, ob sich die am Ende der Reperfusion bestehenden signifikanten Unterschiede zur HTK-Gruppe allein mit dem mechanischen Vorgang des Freispülens erklären lassen.

#### **4.4 Möglichkeiten und Grenzen des Versuchsmodells**

Das Modell der isolierten Perfusion der Leber fand bereits Anwendung zur Beantwortung physiologischer Fragestellungen (Abouna 1969, Ikeda 1990), klinisch zur Überbrückung des hepatischen Komas (Elmslie 1970, Chari 1994), zur Konservierung vor einer Transplantation (Bell 1993, Sung 1974) und zum Vergleich verschiedener Konservierungslösungen (Adham 1997, Jamieson 1988b). Methodisch bestehen bisweilen erhebliche Unterschiede im Vergleich mit unserem Versuchsmodell und auch zwischen den einzelnen Modellen untereinander. So wurden verschiedene Tiermodelle untersucht, die Konservierungszeiträume variiert, verschiedene Konservierungslösungen getestet und die ex-vivo Reperfusion zum einem mit Blut, zum anderen mit Perfusat nach Kaltlagerung bzw. Kaltperfusion durchgeführt. Unterschiede bestehen auch in der Perfusionstechnik und in der Durchführung einer Transplantation bzw. einer ex-vivo Reperfusion nach Kaltperfusion.

Bereits im Jahre 1968 wurde mit der kontinuierlichen Perfusion Leber im Vergleich mit der einfachen Kaltlagerung eine bessere Kaltkonservierung beschrieben (Mieny 1968). Weiterhin gelang vor dem Einsatz der UW- und der HTK-Lösung zur Lebertransplantation die erfolgreiche kontinuierliche Perfusion über achtundvierzig Stunden mit einer auf Haemaccel als Impermeant basierenden isotonen Zitratlösung (Tamaki 1987). Seit den

ersten beschriebenen Erfolgen bei der Nierenkonservierung mit der UW-Lösung (McAnulty 1989) versuchten verschiedene Arbeitsgruppen eine kontinuierliche Langzeitperfusion der Leber mit dieser Lösung (Pienaar 1990, Yamamoto 1991, Yanaga 1990).

Die Hepatektomie der Versuchstiere folgte in unseren Experimenten der Technik der humanen Lebertransplantation. Mit der Perfusionskammer verwendeten wir ein geschlossenes und stabiles System zur isolierten Untersuchung der Leber. Die Perfusionskammer konnte während der Organkonservierung unbeaufsichtigt gelassen werden. Es erfolgten vom zeitlichen Ablauf zufällige Kontrollen der Versuchsanlage. Drei Versuche mußten abgebrochen werden, ein Mal Kaltlagerungsgruppe, sowie zwei Mal in der HTK-Gruppe. Dabei kam es in zwei Fällen zu operationstechnischen Fehlern, die während der Konservierung zum Abbruch zwangen, und in einem Fall trat ein technischer Defekt der Versuchsanlage während der Kaltperfusion auf. Somit mußten insgesamt 27 Tiere hepatektomiert werden, um eine Gruppenstärke von jeweils sechs Tieren zu erreichen.

Prinzipiell läßt sich mit solch Versuchskammer, die den jeweiligen physiologischen Bedürfnissen des zu untersuchenden Organs angepaßt werden kann, eine ex-vivo Testung anderer Organe mit unterschiedlichen Konservierungslösungen und verschieden langen Konservierungszeiten vorstellen. Die kontinuierliche Perfusion erlaubt Sauerstoff und wichtige Metabolite zuzuführen, sowie Stoffwechselendprodukte zu entfernen. Der Vorteil besteht in der isolierten Betrachtung eines Organe. Systemisch wirkende hämodynamische oder biochemische Störfaktoren anderer Organe lassen sich genauso ausschließen wie akute Abstoßungsreaktionen, die mit dem Konservierungsschaden interferieren könnten. Zusätzlich bietet das Modell optimale Voraussetzungen eines kontinuierlichen hämodynamischen Monitorings und eine leichte Durchführung der notwendigen Laborentnahmen und Leberfunktionstests. Weiterhin ergibt sich anhand unseres Versuchsaufbaus ohne eine sich der Konservierung anschließende Transplantation ein erhebliches Potential, Versuchstiere einzusparen. Die Organe eines Tieres können für unterschiedliche Experimente genutzt werden. Schließlich wäre es denkbar, mit der Apparatur neben der hypothermen kontinuierlichen Perfusion verschiedene Kreislaufverhältnisse ex-vivo zu simulieren, um die Auswirkung der Ischämie auf die Leber und andere Organe zu studieren, die nicht in Zusammenhang mit einer Organkonservierung stehen.

Der Vorteil einer geschlossener Perfusionsapparatur mit Simulierung der Verhältnisse der Reperfusion durch Entfernen der Konservierungslösung aus dem System und Gabe des intraoperativ gewonnenen Blutes während der Erwärmung erlaubt zur Zeit nur einen begrenzten Qualitätsvergleich mit anderen Ergebnissen. Um letztendlich die Aussagekraft der isolierten Betrachtung der Leberkonservierung und Reperfusion in unserem Modell beurteilen zu können, müßten weitere Versuche folgen, bei denen nach der Organkonservierung eine Implantation in ein Empfängerschwein erfolgt, da zwar das Ausmaß des Konservierungsschadens gemessen werden kann, eine Aussage über die Aufnahme der Organfunktion nach Implantation der Leber jedoch nicht möglich ist (Tokunaga 1991b).

Abschließend stellt sich die Frage, wie sich die kontinuierliche Perfusion technisch für die Konstruktion einer Perfusionsmaschine umsetzen läßt, die den hohen Standards der humanen Medizin folgt. Das daran prinzipiell Interesse besteht zeigt die Einführung des Life Sustainer 1000 (Sadri 1997). Auch wenn der kontinuierliche Einsatz technisch und klinisch nicht realisierbar sein sollte, konnte gezeigt werden, daß selbst eine Kombination von Kaltlagerung mit Kaltperfusion bzw. die Kombination von Kaltlagerung, Kaltperfusion und erneuter Kaltlagerung der Standardkaltlagerung überlegen ist (van Gulik 1990). Dies könnte in einer Zeit eines das Angebot übersteigenden Bedarfs an zu transplantierenden Lebern split-liver Verfahren nach einer etwaigen Perfusion mit anschließender Kaltlagerung während der Verschickung ermöglichen.

#### **4.5 Abschließende Beurteilung und Ausblick**

Unter Berücksichtigung der klassischen Lebernekroseparameter GOT und GPT, der Gallesekretion, der arteriellen Widerstände und der Lebergewichtszunahme ist die kontinuierliche Kaltperfusion mit Maschinen-UW-Lösung der Kaltlagerung in Belzer-UW-Lösung überlegen. Unterschiede für GOT, GPT und Gallesekretion sind zu Beginn der Warmperfusion signifikant, im Verlauf nur als Trend darstellbar. Gleiches gilt für den Vergleich mit der HTK-Lösung, wo die GOT- und GPT-Werte allerdings während der gesamten Warmperfusion signifikant höher sind. Die Bestimmung der Gallengangparameter während der Warmperfusion reflektiert in allen Versuchsgruppen eine Intaktheit der intra- und extrahepatischen Gallengänge. Auch die im Gegensatz zu den anderen Parametern zum Teil signifikant höheren PCHE-Werte in der HTK- und Kaltlagerungsgruppe erfordern eine weitere Klärung.

Theoretisch erscheint der Versuchsaufbau geeignet, neue, bisher nur in der Zellkultur oder am Kleintiermodell getestete Konservierungslösungen zu beurteilen, was wir exemplarisch anhand der Gerlach-FU-Lösung gezeigt haben.

In einer weiteren Versuchsgruppe könnte anstelle der Reperfusion mit Eigenblut in der extrakorporalen Versuchsanordnung eine Transplantation erfolgen, um beurteilen zu können, in wieweit der von uns in den einzelnen Gruppen erzeugte und gemessene Konservierungsschaden eine Funktionsaufnahme des Organs überhaupt ermöglicht.

## 5 Zusammenfassung

Die Lebertransplantation beim Menschen hat sich in den letzten Jahren zu einem etablierten semielektiven Verfahren zur Behandlung terminaler Lebererkrankungen entwickelt. Einen wichtigen Beitrag hierzu hat die Entwicklung sicherer Konservierungsverfahren zwischen der Spenderhepatektomie und der Organimplantation geleistet. Mit der University of Wisconsin (UW)- und der Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat (HTK)-Lösung ist in der humanen Lebertransplantation eine sichere Kaltkonservierung von 24 Stunden möglich, tierexperimentell mit der UW-Lösung von bis zu 48 Stunden. Dennoch kommt es teilweise postoperativ zu schweren Leberfunktionsstörungen bis hin zum initialen Transplantatversagen, die zum Teil mit der Dauer der Organkonservierung in Zusammenhang stehen. Die Ziele der Organkonservierung sind deshalb eine Verbesserung der Funktion des Transplantats und eine Verlängerung der sicheren Konservierungsdauer ohne das Auftreten irreversibler Leberfunktionsstörungen. Im Schweinetiermodell gelang mit der UW-Lösung bisher keine verlässliche über 24 Stunden hinausgehende Kaltkonservierung. Wir wählten deshalb eine Kaltkonservierungszeit in dem Grenzbereich zwischen 24 und 48 Stunden, nahe an der 48 Stundengrenze, die in allen Versuchsgruppen einen definierten Konservierungsschaden erwarten läßt.

Mit der Untersuchung sollte die Frage beantwortet werden, ob eine kontinuierliche Perfusion mit der UW-Lösung während der Kaltkonservierung einen geringeren Konservierungsschaden als eine Standardkaltlagerung mit der UW-Lösung nach sich zieht. Weiterhin sollte geklärt werden, ob mit der neu eingeführten FU-Lösung eine der UW-Lösung vergleichbare oder sogar bessere Leberkonservierung möglich ist. Insgesamt führten wir an 24 Schweinen der deutschen Landrasse eine Spenderhepatektomie durch. Für die kontinuierliche Perfusion gelangten UW-Lösung (n=6), HTK-Lösung (n=6) und die neu entwickelte FU-Lösung (n=6) zum Einsatz. Zur Kaltlagerung (n=6) wurde ebenfalls UW-Lösung eingesetzt. Der Funktionszustand der Leber wurde während einer sich an die Kaltkonservierung anschließenden isolierten Warmperfusion, wobei das Organ in der Versuchsapparatur verblieb, durch die Bestimmung definierter klinisch-chemischer Parameter, der Gallesekretion, des arteriellen Widerstandes und der Zunahme des Lebergewichts bis zum Versuchsende quantifiziert. Als Versuchsmodell diente die extrakorporale Perfusion modifiziert nach P. Neuhaus, welche die isolierte Betrachtung der Leber während der Konservierung ermöglicht. Systemisch wirkende hämodynamische und

biochemische Störfaktoren durch andere Organe ließen sich dadurch ausschließen.

Die kontinuierliche Perfusion mit der UW-Lösung zeigte sich der Standardkaltlagerung unter Heranziehung der Nekroseparameter GOT und GPT, der Gallesekretion, der arteriellen Widerstände und der Zunahme des Lebergewichts überlegen. Dabei ging eine geringere Serumkonzentration der Transaminasen in der UW-Gruppe mit einer höheren Gallesekretion, einem geringeren arteriellen Widerstand und einer geringeren Zunahme des Lebergewichts einher. Diese Befunde stehen jedoch im Gegensatz zu den Lebersyntheseparametern PCHE und Albumin mit höheren Serumkonzentrationen für die Kontrollgruppe. Die neu entwickelte FU-Lösung zeigte im Vergleich mit der UW-Gruppe eine ähnliche Qualität der Konservierung. Am Ende der Kaltperfusion wurden die Lebern in der FU-Gruppe mit der FU-Lösung C freigespült. Dieses Freispülen erklärt die geringeren GOT- und GPT-Werte bei gleichzeitig geringerer Gallesekretion und höheren arteriellen Widerständen in der FU-Gruppe zu Beginn der Warmperfusion im Vergleich mit der UW-Gruppe. Die Kaltkonservierung mit der HTK-Lösung war unter Berücksichtigung der Nekroseparameter der kontinuierlichen Perfusion mit UW-Lösung unterlegen. Auch hier stehen diese Ergebnisse im Gegensatz zu den Lebersyntheseparametern PCHE und Albumin mit höheren Serumkonzentrationen für die HTK-Gruppe im Vergleich mit der UW-Gruppe. Die Gallengangparameter AP, GGT und Gesamtbilirubin erbrachten keine zusätzliche Information für die Abschätzung des Konservierungsschadens in den einzelnen Versuchsgruppen.

Zusammenfassend erwies sich die kontinuierliche Kaltperfusion mit der UW-Lösung als das besser geeignete Konservierungsverfahren. Damit sich die kontinuierliche Perfusion bei der Lebertransplantation beim Menschen durchsetzen kann, müssen die gewonnenen Erkenntnisse technisch für die Konstruktion einer Perfusionsmaschine umgesetzt werden, die den hohen Standards der Medizin genügt. Daß dies realisierbar ist, zeigt die langjährige Erfahrung mit der kontinuierlichen Perfusion bei der Nierentransplantation beim Menschen.

## 6 Anhang

### Literaturverzeichnis

1. Abouna GM, Ashcroft T, Hull C, Hodson A, Kirkley J, Waldner DN: The assessment of function of the isolated perfused porcine liver. *Brit J Surg* 1969; 56: 289-295
2. Ackerman JR, Barnard CN: A report on the successful storage of kidneys. *Br J Surg* 1966; 53: 525-532
3. Adham M, Peyrol S, Chevallier M, Ducerf C, Vernet M, Barakat C, de la Roche E, Taibi A, Bizollon T, Rigal D, Pouyet M, Baulieux J: The isolated porcine liver: assessment of viability during and after six hours of perfusion. *Transpl Int* 1997; 10: 299-311
4. Alexander JW, Vaughn WK: The use of "marginal" donors for organ transplantation. *Transpl* 1991; 51: 135-141
5. Aminimalai A, Kehrer G, Großmann F, Richter J, Bretschneider HJ: Morphological investigation of the porcine liver directly following preservation with the Euro-Collins, University of Wisconsin and Bretschneider's HTK solution. *Langenbecks Arch Chir* 1992; 377: 81-88
6. Badger IL, Michell ID, Buist LJ, Sherlock D, Buckels JAC, McMaster P: Human hepatic preservation using Marshall's solution and University of Wisconsin solution in a controlled, prospective trial. *Transpl Proc* 1990; 22: 2183-2184
7. Bao YM, Adam R, Samuel D, Castaing G, Bismuth H: Influence of high aminotransferase levels on rejection in liver transplantation. *Transpl Proc* 1994; 26: 259-260
8. Bell R, David N, Burrows P, House AK: A comparison of flushing solutions for liver procurement using an isolated perfused porcine model. *Aust NZ J Surg* 1994; 64: 565-568
9. Bell R, Makin G, Robbins P, Robertson T, House AK: Hypothermic ischaemia of the liver: a re-perfusion phenomenon. *Aust NZ J Surg* 1997; 67: 442-447



10. Bell R, Shiel AGR, Dolan P, Mears DC, Woodman K: The evaluation of the isolated perfused liver as a model for the assessment of liver preservation. *Aust NZ J Surg* 1993; 63: 44-52
11. Belzer FO, Ashby B, Dunphy JE: 24-hour and 72-hour preservation of canine kidneys. *Lancet* 1967; 2: 536-538
12. Belzer FO, Southard JH: Principles of solid organ preservation by cold storage. *Transpl* 1988; 45: 673-676
13. Benichou J, Halgrimson CG, Weil III R, Koep LJ, Starzl TE: Canine and human liver preservation for 6 to 18 hours by cold infusion. *Transpl* 1977; 24: 407-411
14. Blumhardt G, Lemmens P, Topalidis T, Meissler M, Baer P, Steffen R, Schön M, Müller C, Neuhaus P: Increased flow rate preservation solution in the hepatic artery during organ preservation can improve postischemic liver function. *Transpl Proc* 1993; 25: 2540-2542
15. Bowers B, Branum GD, Rotolo FS, Watters CR, Meyers WC: Bile flow-an index of ischemic injury. *J Surg Res* 1987; 42: 565-569
16. Bretschneider HJ: Myocardial protection. *Thorac cardiovasc Surg* 1980; 28: 295-302
17. Bretschneider L, Daloze PM, Huguet C, Porter KA, Groth CG, Kashiwagi N, Hutchinson DE, Starzl TE: The use of combined preservation techniques for extended storage of orthotopic liver homografts. *Surg Gynecol Obstet* 1968; 126: 263-274
18. Cannon JA: no title. *Transplant Bull* 1965; 3: 7
19. Chari RS, Collins BH, Magee JC, DiMaio JM, Kirk AD, Harland RC, McCann RL, Platt JL, Meyers WC: Brief report. Treatment of hepatic failure with ex-vivo pig-liver perfusion followed by liver transplantation. *N Eng J Med* 1994; 331: 234-237
20. Cisneros C, Guillén F, Gomez R, Gutierrez J, Vorwald P, Montero A, Moreno E: Analysis of warm ischemia time for prediction of primary nonfunction of the hepatic graft. *Transpl Proc* 1991; 23: 1976

21. Clavien PA, Morgan GR, Sanabria JR, Petrunka C, Levy GA, Robert P, Harvey C, Strasberg SM: Effect of cold preservation on lymphocyte adherence in the perfused rat liver. *Transpl* 1991; 52: 412-417
22. Colombani PM, Cigarro FG, Schwarz K, Wise B, Maley WE, Klein AS: Liver transplantation in infants younger than 1 year of age. *Ann Surg* 1996; 223: 658-664
23. D'Alessandro AM: Use of UW in pancreas transplantation. *Diabetes* 1989; 38 Suppl 1: 7-9
24. D'Alessandro AM, Kalayoglu M, Sollinger HW, Hoffmann RM, Pirsch JD, Lorentzen DF, Melzer JS, Belzer FO: Experience with Belzer UW cold storage solution in human liver transplantation. *Transpl Proc* 1990; 22: 474-476
25. D'Alessandro AM, Kalayoglu M, Sollinger HW, Hoffmann RM, Reed A, Knechtle SJ, Pirsch JD, Hafez GR, Lorentzen D, Belzer FO: The predictive value of donor liver biopsies on the development of primary nonfunction after orthotopic liver transplantation. *Transpl Proc* 1991; 23: 1536-1537
26. den Butter G, Saunder A, Marsh DC, Belzer FO, Southard JH: Comparison of solutions for preservation of the rabbit liver as tested by isolated perfusion. *Transpl Int* 1995; 8: 466-471
27. Denmark SC, Shaw BW Jr, Starzl TE, Griffith BP: Veno-venous bypass without systemic anticoagulation in canine and human liver transplantation. *Surg Forum* 1983; 34: 380
28. Dette K, Knoop M, Langrehr JM, Haller G, Steinmueller T, Guckelberger O, Horch D, Haeusler M, Neuhaus P: Donor MEGX test fails to predict graft function after orthotopic liver transplantation. *Transpl Proc* 1997; 29: 376-377
29. de Ville de Goyet J: Split liver transplantation in Europe. *Transpl* 1995; 59: 1371-1376
30. Dutkowski P, Schönfeld S, Odermatt B, Heinrich T, Junginger T: Rat liver preservation by hypothermic oscillating liver perfusion compared to simple cold storage. *Cryobiology* 1998; 36: 61-70

31. Elmslie RG, Pirola RC, Coroneos N, Ham JM: Function of the liver after isolated cold perfusion. *Surg Gynec Obstet* 1970; 130: 694-696
32. Erhard J, Lange R, Scherer R, Eigler FW: Experiences with histidine-tryptophan-ketoglutarate-perfused organs in clinical liver transplantation. *Transpl Proc* 1993; 25: 1885-1886
33. Erhard J, Lange R, Scherer R, Kox WJ, Bretschneider HJ, Gebhard MM, Eigler FW: Comparison of histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution versus University of Wisconsin solution for organ preservation in human liver transplantation. *Transpl Int* 1994; 7: 177-171
34. Eurotransplant International Foundation: Annual Report 1997. Leiden, The Netherlands
35. Iu S, Harvey PRC, Makowka L, Petrunka CN, Ilson RG, Strasberg SM: Markers of allograft viability in the rat. *Transpl* 1987; 44: 562-569
36. Fujita S, Rosen C, Reed A, Langham MR Jr, Howard RJ, Lauwers GY, Scornik J: Significance of preformed anti-donor antibodies in liver transplantation. *Transpl* 1997; 63: 84-88
37. Furukawa H, Todo S, Inventarza O, Casavilla A, Wu YM, Scotti-Foglieni C, Broznick B, Bryant J, Day R, Starzl TE: Effect of cold ischemia on the early outcome of human hepatic allografts preserved with UW solution. *Transpl* 1991; 51: 1000-1004
38. Garcia-Valdecasas JC, González FJ, Grande L, Rimola A, Navasa M, Fuster J, Lacy AM, Cugat E, Visa J: The use of the University of Wisconsin solution either alone or in a combined method. *Transpl Int* 1992; 5: 77-80
39. Gubernatis G, Dietl KH, Kemnitz J, Oldhafer K, Hauss J, Buchholz B, Pichlmayr R: Extended cold preservation time (20 hours 20 minutes) of a human liver graft by using cardioplegic HTK solution. *Transpl Proc* 1991; 23: 2408-2409
40. Gubernatis G, Pichlmayr R, Lamesch P, Grosse H, Bornscheuer A, Meyer H-J, Ringe B, Farle M, Bretschneider HJ: HTK-solution (Bretschneider) for human transplantation. *Langenbecks Arch Chir* 1990; 375: 66-70

41. Haller GW, Langrehr JM, Blumhardt G, Platz KP, Müller A, Bechstein WO, Bisson J, Jonas S, Lobeck H, Knoop M, Neuhaus P: Factors relevant to the development of primary dysfunction in liver allografts. *Transpl Proc* 1995; 27: 1192
42. Hardy JD, Chavez CM, Kurrus FD: Heart transplantation in man. Developmental studies and a report of a case. *JAMA* 1964; 188: 1132-1140
43. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML Jr, Walker GR Jr: Lung homotransplantation in man: Report of initial case. *JAMA* 1963; 186: 1065-1074
44. Harvey PR, Iu S, Mc Keown CMB, Petrunka CN, Ison RG, Strasberg SM: Adenine nucleotide tissue concentrations and liver allograft viability after cold preservation and warm ischemia. *Transpl* 1988; 45: 1016-1020
45. Hoffman B, Sollinger H, Kalayoglu M, Belzer FO: Use of UW solution for kidney transplantation. *Transpl* 1988; 46: 338-339
46. Holloway CMB, Harvey PRC, Strasberg SM: Viability of sinusoidal lining cell in cold preserved rat liver allografts. *Transpl* 1990; 49: 225-228
47. Howard TK, Klintmalm CBG, Cofer JB, Husberg BS, Goldstein RM, Gonwa TA: The influence of preservation injury on rejection in hepatic transplant recipients. *Transpl* 1990; 49: 103-107
48. Howden BO, Jablonski P, Self G, Rosenfeldt F, Marshall VC: Effective organ preservation with modified HES-free UW solution with lowered potassium content. *Transpl Proc* 1992; 24: 2274-2275
49. Ikeda T, Yanaga K, Lebeau G, Higashi H, Kakizoe S, Starzl TE: Hemodynamic and biochemical changes during normothermic and hypothermic sanguineous perfusion of the porcine hepatic graft. *Transpl* 1990; 50: 564-567
50. Isai H, Sheil AGR, Bell R, Woodman K, Painter DM, Earl J, Kirwan PD, Liu WG: A comparison of the UW solution with and without hydroxyethyl starch for liver preservation using the isolated porcine liver perfusion model. *Transpl Proc* 1990; 22: 2152-2153

51. Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S, Claesson K, Moen J, Vreugdenhill PK, Wight DGD, Southard JH, Belzer FO: Preservation of the canine liver for 24-48 hours using simple cold storage with UW solution. *Transpl* 1988a; 46: 517-522
52. Jamieson NV, Sundberg R, Lindell S, Southard JH, Belzer FO: The isolated perfused rabbit liver as a model for assessment of organ preservation. *Transpl Proc* 1988b; 20: 996-997
53. Jonas S, Bechstein WO, Keck H, Lemmens HP, Blumhardt G, Neuhaus P: Donor criteria in hepatic transplantation. *Langenbecks Arch Chir* 1994; 379: 8-12
54. Kalayoglu M, Stratta RJ, Hoffmann RM, Sollinger HW, D'Alessandro AM, Pirsch JD, Belzer FO: Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet* 1988; II: 617-618
55. Kamiike W, Burdelski M, Steinhoff G, Ringe B, Lauchart WE, Pichlmayr R: Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver transplantation. *Transpl* 1988; 45: 138-143
56. Katz E, Mor E, Schwartz ME, Theise N, Patel T, Miller CM: Preservation injury in clinical liver transplantation : Incidence and effect on rejection and survival. *Clin Transpl* 1994; 8: 492-496
57. Klar E, Bredt M, Kraus T, Angelescu M, Mehrabi A, Senninger N, Otto G, Herfarth C: Early assessment of reperfusion injury by intraoperative quantification of hepatic microcirculation in patients. *Transpl Proc* 1997; 29: 362-363
58. Klöppel K, Gerlach J, Neuhaus P: Untersuchungen zur Elektrolytzusammensetzung von Leberkonservierungslösungen an Hepatozyten in einem Modell der In-vitro-Konservierung und Reoxygenierung. *Langenbecks Arch Chir* 1994; 379: 210-217
59. Lamesch P, Raygrotzki S, Kehrer G, Gubernatis G, Bretschneider HJ, Pichlmayr R: Preservation of the liver with the HTK solution. *Transpl proc* 1990; 22: 518-519
60. Lanir A, Jenkins RL, Caldwell C, Lee RGL, Khettry U, Clouse ME: Hepatic transplantation survival: Correlation with adenine nucleotide level in donor liver. *Hepatology* 1988; 8: 471-475

61. Lerut J, Gertsch Ph, Luder P, Müller P, Haller B, Zimmermann A, Blumgart LH: University of Wisconsin-Lösung und elektive humane Lebertransplantation. *Helv Chir Acta* 1990; 57: 87-91
62. Levy MN: Oxygen consumption and blood flow in the hypothermic, perfused kidney. *Am J Physiol* 1959; 197: 1111-1114
63. Makowka L, Zerbe TR, Chapman F, Qian S, Sun H, Murase N, Kormos R, Snyder J, Starzl TE: Prolonged rat cardiac preservation with UW lactobionate solution. *Transpl Proc* 1989; 21: 1350-1352
64. Markin RS, Wood RP, Stratta RJ, Langnas AN, Pillen TJ, Dawidson I, Zetterman RK, Shaw BW Jr: Predictive value of intraoperative biopsies of donor organs in patients undergoing orthotopic liver transplantation. *Transpl Proc* 1990; 22: 418-419
65. Marchioro TL, Huntley RT, Waddell WR, Starzl TE: Extracorporeal perfusion for obtaining postmortem homografts. *Surgery* 1963; 54: 900-911
66. Marshall VC, Howden BO, Jablonski P, Scott DF, Thomas AC, Cham CW, Biguzas M, Walls K: Analysis of UW solution in a rat liver transplant model. *Transpl Proc* 1990; 22: 503-505
67. Martin DR, Scott DF, Downes GL, Belzer FO: Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation: Cold sensitivity of the ATPase system. *Ann Surg* 1972; 175: 111-117
68. Matsui Y, Asano T, Enomoto E, Uematsu T, Nakagohri T, Tokoro Y, Jingu K, Miyauchi H, Maruyama M, Iwashita C, Isono K: Graft viability assay for preserved livers using hepatic protein synthesis rates in a rat liver transplantation model. *Transpl proc* 1994; 26: 2388-2389
69. Matsunami H, Hirose H, Onitsuka A, Lynch SV, Balderson GA, Strong RW: 31P-magnetic resonance spectroscopy in evaluating hepatic function: A possible application in donor assessment prior to liver transplantation. *Transpl Proc* 1990; 22: 2146-2148
70. McAnulty JF, Ploeg RJ, Southard JH, Belzer FO: Successful five-day preservation of the canine kidney. *Transpl* 1989; 47: 37-41

71. McKeown CMB, Edwards V, Phillips MJ, Harvey PRC, Petrunka CN, Strasberg SM: Sinusoidal lining cell damage: The critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transpl* 1988; 46: 178-191
72. Mears DC, Sheil AGR, Kelly GE, Dilworth P, Ishikawa T: A comparison of University of Wisconsin solution and albumin solution for donor liver preservation. *Transpl Proc* 1992; 24: 260-262
73. Mieny CJ, Eiseman B: Liver preservation: Unperfused cold storage and continuous cold perfusion. *Surg* 1968; 63: 923-928
74. Moen J, Claesson K, Pienaar H, Lindell S, Ploeg RJ, McAnulty JF, Vreugdenhil P, Southard JH, Belzer FO: Preservation of dog liver, kidney, and pancreas using Belzer-UW-solution with a high-sodium and low-potassium content. *Transpl* 1989; 47: 940-945
75. Mor E, Klintmalm GB, Gonwa TA, Solomon H, Holman MJ, Gibbs JF, Watemberg I, Goldstein RM, Husberg BS: The use of marginal donors for liver transplantation. *Transpl* 1992; 53: 383-386
76. Morgan GR, Sanabria JR, Clavien PA, Phillips MJ, Edwards C, Harvey PRC, Strasberg SM: Correlation of donor nutritional status with sinusoidal lining cell viability and liver function in the rat. *Transpl* 1991; 51: 1176-1183
77. Nagao T, Uchida H, Sugimoto H, Tomikawa S, Inoue S, Mita K, Beck Y, Watanabe K, Nishimura Y, Meigata K, Wada C, Ishida Y, Takemura F, Kawano N, Shiga H: Twenty-four-hour preservation of beagle livers with University of Wisconsin solution. *Transpl Proc* 1992; 24: 1599-1601
78. National Institute of Health: Liver transplantation. Consensus Development Conference, June 20-23, 1983. *Hepatology* 1984; 4: 107S-110S
79. Neuhaus P: Extracorporale Leberperfusion-Entwicklung und Erprobung eines neuen Modells. *Habilitationsschrift Medizinische Hochschule Hannover* 1982
80. Nikaein A, Backman L, Jennings L, Levy MF, Goldstein R, Gonwa T, Stone MJ, Klintmalm G: HLA compatibility and liver transplant outcome. *Transpl* 1994; 7: 786-792

81. Oellerich M, Ringe B, Gubernatis G, Pichlmayr R, Burdelski M, Lamesch P, Bunzendahl H, Herrmann H: Lignocaine metabolite as a measure of pre-transplant liver function. *Lancet* 1989; 25: 640-642
82. Ontell SJ, Makowka L, Ove P, Starzl TE: Improved hepatic function in the 24-hour preserved rat liver with UW-lactobionate solution and SRI 63-441. *Gastroenterology* 1988; 95: 1617-1624
83. Pichlmayr R, Bretschneider HJ, Kirchner E, Ringe B, Lamesch P, Gubernatis G, Hauss J, Niehaus KJ, Kaukemüller J: Ex situ Operation an der Leber. Eine neue Möglichkeit in der Leberchirurgie. *Langenbecks Arch Chir* 1988; 373: 122-126
84. Pienaar BH, Lindell SL, van Gulik T, Southard JH, Belzer FO: Seventy-two-hour preservation of the canine liver by machine perfusion. *Transpl* 1990; 49: 258-260
85. Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, Stegall MD, Pirsch JD, Hoffmann RM, Sasaki T, Sollinger HW, Belzer FO, Kalayoglu M: Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation-a multivariate analysis. *Transpl* 1993; 55: 807-813
86. Ploeg RJ, Goossens D, McAnulty JF, Southard JH, Belzer FO: Successful 72-hour cold storage of dog kidneys with UW solution. *Transpl* 1988; 46: 191-196
87. Plonait H und Bickhardt K: Blutkrankheiten, in Plonait H und Bickhardt K (Hrsg): *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*, Berlin und Hamburg: Parey 1988, S. 120
88. Post S, Rentsch M, Gonzalez AP, Palma P, Otto G, Menger MD: Importance of the first minutes of reperfusion in hepatic preservation injury. *Transpl Proc* 1995; 27: 727-728
89. Rauen U, Erhard J, Kühnhenrich P, Lange R, Mossidis M, Eigler FW, de Groot H: Nonparenchymal cell and hepatocellular injury to human liver grafts assessed by enzyme-release into the perfusate. *Langenbecks Arch Chir* 1994; 379: 241-247
90. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB: Pharmacologic approach to the tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503
91. Sadri F, Loebel NG, Bhagwandin BD, Karuna-Karan A: A fully automated organ perfusion workstation: The Life Sustainer 1000. *Transpl Proc* 1997; 29:3588-3590



92. Schwartz M, Manzarbeitia C, Thung S, Miller C: Interpretation of intraoperative liver biopsies is predictive of early hepatic allograft function. *Hepatology* 1990; 12: 864
93. Shaw BW, Wood RP, Stratta RJ, Pillen TJ, Langnas AN: Stratifying the causes of death in liver transplant recipients. *Arch Surg* 1989; 124: 895-900
94. Shibayama Y, Asaka S, Nishijima A: Mechanisms of liver injury following ischemia. *Exp Mol Pathol* 1991; 55: 251-260
95. Sicular A, Moore FD: The postmortem survival of tissues. *J Surg Res* 1961; 1: 16
96. Southard JH, van Gulik TM, Ametani MS, Vreugdenhil PK, Lindell SL, Pienaar BL, Belzer FO: Important components of the UW solution. *Transpl* 1990; 49: 251-257
97. Starzl TE, Iwatsuki S, Esquivel CO, Todo S, Kam I, Lynd ST, Gordon RD, Shaw BW: Refinements in surgical technique of liver transplantation. *Semin Liver Dis* 1985a; 5: 349-356
98. Starzl TE, Iwatsuki S, Klintmalm G, Schröter GPJ, Weil III R, Koep LJ, Porter KA: Liver transplantation, 1980, with particular reference to Cyclosporin-A. *Transpl Proc* 1981; 13: 281-285
99. Starzl TE, Iwatsuki S, Shaw BW, Gordon RD, Esquivel CO: Immunosuppression and other nonsurgical factors in improved results of liver transplantation. *Semin Liver Dis* 1985b; 5: 334-343
100. Starzl TE, Marchioro TL, von Kaulla KN: Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet* 1963; 112: 135-144
101. Steffen R, Krom RAF, Ferguson D, Ludwig J: Comparison of University of Wisconsin (UW) and Eurocollins (EC) preservation solution in a rat liver transplant model. *Transpl Int* 1990; 3: 133-136
102. Steininger R, Roth E, Holz Müller P, Reckendorfer H, Sperlich M, Grünberg T, Moser E, Mühlbacher F: Changes in hepatic tissue water content in EC-, UW-, and HTK-preserved livers tested in a pig liver transplant model. *Transpl Proc* 1991; 23: 2414-2415

103. Strasberg SM, Howard TK, Molmenti EP, Hertl M: Selecting the donor liver: Risk factors for poor function after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1994; 20: 829-837
104. Stratta RJ, Wood RP, Langnas AN, Marujo W, Duckworth RM, Williams L, Saito S, Pillen TJ, Shaw BW Jr: Effect of extended preservation and reduced-size grafting on organ availability in pediatric liver transplantation. *Transpl Proc* 1990; 22: 482-484
105. Sumimoto R, Kamada N: Lactobionate as the most important component in UW solution for liver preservation. *Transpl Proc* 1990; 22: 2198-2199
106. Sumimoto R, Kamada N, Jamieson NJ, Fukuda Y, Dohi K: A comparison of a new solution combining histidine and lactobionate with UW solution and Eurocollins for rat liver preservation. *Transpl* 1991; 51: 589-593
107. Sumimoto R, Lindell SL, Southard JH, Belzer FO: A comparison of histidine-lactobionate and UW solution in 48 hour dog liver preservation. *Transpl* 1992; 54: 610-614
108. Sung DTW, Woods JE: Forty-eight-hour preservation of the canine liver. *Ann Surg* 1974; 179: 422-426
109. Takei Y, Gao W, Hijioka T, Savier E, Lindert KA, Lemasters JJ, Thurman RG: Increase in survival of liver grafts after rinsing with warm Ringer's solution due to improvement of hepatic microcirculation. *Transpl* 1991; 52: 225-230
110. Tamaki T, Kamada N, Wight DG, Pegg DE: Successful 48-hour preservation of the rat liver by continuous hypothermic perfusion with haemaccel-isotonic citrate solution. *Transpl* 1987; 43: 468-471
111. Todo S, Nery J, Yanaga K, Podesta L, Gordon RD, Starzl TE: Extended preservation of human liver grafts with UW solution. *JAMA* 1989; 261: 711-714
112. Tokunaga Y, Wicomb WN, Concepcion W, Nakazato P, Collins GM, Esquivel CO: Successful 20-hour rat liver preservation with chlorpromazine in sodium lactobionate sucrose solution. *Surg* 1991a; 110: 80-86

113. Tokunaga Y, Wicomb WN, Concepcion W, Nakazato P, Cox KL, Esquivel CO, Collins GM: Improved rat liver preservation using chlorpromazine in a new sodium lactobionate sucrose solution. *Transpl Proc* 1991b; 23: 660-661
114. van Gulik TM, Lindell SL, Boudjema K, Pienaar BH, Vreugdenhil PK, Southard JH, Belzer FO: Combined cold storage and perfusion preservation of the canine liver. *Transpl Proc* 1990; 22: 520-522
115. van Gulik TM, Nio CR, Cortissos E, Klopper PJ, van der Heyde MN: Comparison of HTK solution and UW solution in 24- and 48-hour preservation of canine hepatic allografts. *Transpl Proc* 1993; 25: 2554
116. van Gulik TM, Reinders ME, Nio R, Frederiks WM, Bosma A, Klopper PJ: Preservation of canine liver grafts using HTK solution. *Transpl* 1994; 57: 167-171
117. Wahlberg JA, Love R, Landegaard L, Southard JH, Belzer FO: 72-hour preservation of the canine pancreas. *Transpl* 1987; 43: 5-8
118. Waud WR, Rajagopalan KV: The mechanism of conversion of rat liver xanthine dehydrogenase from an NAD<sup>+</sup>-dependent form (type D) to an O<sub>2</sub>-dependent form (type O). *Arch Biochem Biophys* 1976; 172: 365-379
119. Welch CS: A note on transplantation of the whole liver in dogs. *Transplant Bull* 1955; 2: 54-55
120. Wicomb WN, Colins AB, Tokunaga Y, Esquivel C: Choice of cation in solution for hypothermic storage of liver and heart. *Transpl* 1990; 51: 271-282
121. Wood RP, Ozaki CF, Katz SM, Monsour HP, Dyer CH, Johnston TD: Liver transplantation-the last ten years. *Horizon Org Transpl* 1994; 74: 1133-1148
122. Yamamoto N, Konishi Y, Wakashiro S, Takayasu T, Tatsumi Y, Shimahara Y, Tanaka K, Ozawa K: Seventy-two-hour preservation of porcine liver by continuous hypothermic perfusion with UW solution in comparison with simple cold storage. *J Surg Res* 1991; 51: 288-292
123. Yanaga K, Makowka L, Lebeau G, Hwang RR, Shimada M, Kakizoe S, Demetris AJ, Starzl TE: A new liver perfusion and preservation system for transplantation research in large animals. *J Invest Surg* 1990; 3: 65-75

124. Yu W, Coddington D, Bitter-Suermann H: Rat liver preservation. *Transpl* 1990; 49: 1060-1066
125. Zhu Y, Furukawa H, Nakamura K, Hamamoto I, Wu Y, Xiaoshan R, Venkataramanan R, Todo S, Starzl TE: Sodium lactobionate sucrose solution for canine liver and kidney preservation. *Transpl Proc* 1993; 25: 1618-1619
126. Zhu Y, Zeng Q, Suzuki T, Doria C, Takeyoshi I, Hamada N, Nemoto A, Zhang S, Furukawa H, Todo S: Successful 48-hour preservation of the canine liver by modified simple hypothermic storage with University of Wisconsin solution. *Transpl Proc* 1995; 27: 732-733

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Aufbaus der Perfusionsapparatur mit Kammer, Blutpumpen und Regelkreisen.....	18
Abbildung 2: Schematische Darstellung des Oxygenatorkreislaufs .....	20
Abbildung 3: Schematische Darstellung des Dialysekreislaufs .....	21
Abbildung 4: Mittlere GOT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf.....	32
Abbildung 5: Mittlere GPT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf.....	34
Abbildung 6: Mittlere GGT- Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf.....	36
Abbildung 7: Mittlere AP-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf.....	38
Abbildung 8: Mittlere Gesamtbilirubin-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppe während der Warmperfusion im Verlauf.....	40
Abbildung 9: Mittlere PCHE-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf.....	42
Abbildung 10: Mittlere Albumin-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion im Verlauf.....	44
Abbildung 11: Mittlere Gallesekretion in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion in Prozent pro Stunde der intraoperativen Gallesekretion.....	45

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Zusammensetzung der Standard-UW-Lösung .....	16
Tabelle 2: Zusammensetzung der Gerlach A-FU-Lösung.....	16
Tabelle 3: Einteilung der Versuchsgruppen .....	23
Tabelle 4: Vergleich der Zusammensetzung der Maschinen-UW-Lösung mit der Standard UW-Lösung .....	24
Tabelle 5: Zusammensetzung der HTK-Bretschneider Lösung .....	25
Tabelle 6: Vergleich der Zusammensetzung der Gerlach B-FU-Lösung mit der Gerlach C- FU-Lösung .....	26
Tabelle 7: Mittlere GOT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion.....	32
Tabelle 8: Mittlere GPT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion.....	33
Tabelle 9: Mittlere GGT-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion.....	35
Tabelle 10: Mittlere AP-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion.....	37
Tabelle 11: Mittlere Gesamtbilirubin-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion.....	39
Tabelle 12: Mittlere PCHE-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion.....	41
Tabelle 13: Mittlere Albumin-Serumkonzentration in den einzelnen Gruppen nach 0, 60 und 300 Minuten Warmperfusion.....	43
Tabelle 14: Mittlere Gallesekretion in den einzelnen Gruppen während der Warmperfusion in Prozent pro Stunde der intraoperativen Gallesekretion .....	45
Tabelle 15: Mittlerer arterieller Widerstand in den einzelnen Gruppen nach 15, 60 und 300 Minuten während der Warmperfusion.....	47

Tabelle 16: Mittleres Lebergewicht postoperativ und nach Warmperfusion, sowie mittlere prozentuale Gewichtszunahme in den einzelnen Gruppen ..... 48

## Abkürzungsverzeichnis

AP	Alkalische Phosphatase
ATP	Adenosintriphosphat
EC	Eurocollins
FU	Freie Universität
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transferase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transferase
HAES	Hydroxyähtylstärke
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
HTK	Histidin-Tryptophan-Ketoglutarat
K	Kalium
Na	Natrium
PCHE	Pseudocholinesterase
PNF	Initiale Nichtfunktion („primary nonfunction“)
UW	University of Wisconsin



## **Lebenslauf**

### **Persönliche Angaben**

Wassilios Georgios Meißner  
21.04.1971 geboren in Berlin

### **Schulbildung**

1977-1979 Hans-Janocha Grundschule (Berlin)  
1979-1983 Grundschule Am Vierrutenberg (Berlin)  
1983-1990 Bettina-von-Arnim Oberschule (Berlin)  
12.06.1990 Abitur an der Bettina-von-Arnim Oberschule in Berlin

### **Studium**

10/1990-05/1997 Studium der Humanmedizin  
10/1990-04/1995 Freie Universität Berlin  
04/1995-05/1997 Humboldt-Universität Berlin  
13.05.1997 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Stipendiat der Studienstiftung des deutschen Volkes 4/91-6/97

### **Arbeitsverhältnis**

15.08.1997-14.02.1999 Arzt im Praktikum  
Seit dem 15.02.1999 Assistenzarzt  
Neurologische Klinik und Poliklinik,  
Charité Campus Virchow-Klinikum, HU Berlin,  
Direktor: Prof. Dr. Karl Max Einhäupl

## **Danksagung**

Herr Professor Dr. Peter Neuhaus hat durch seine Entwicklung der Druckperfusionskammer und der Etablierung des Modells der extrakorporalen Perfusion unter Druckanwendung diese Arbeit überhaupt erst ermöglicht. Dafür und für sein zu jeder Zeit entgegengebrachtes Interesse für die Versuche möchte ich Ihm meinen Dank aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Rainer Lüsebrink, der mich bei der Planung und Durchführung der Versuche, sowie der anschließenden wissenschaftlichen Auswertung der Ergebnisse immer bestens betreut hat.

Den mittlerweile ärztlichen Kollegen Robert Eisele, Michail Winkler und Carsten Frels, die sich als Doktoranden mit anderen Fragestellungen des Forschungsprojektes beschäftigt haben, möchte ich danken, da ohne ihr Engagement und ihre Anregungen ein so umfangreiches Projekt kaum zu bewältigen gewesen wäre.

Herr Dr. Michael Meißler und Frau Dr. Ruth Neuhaus waren immer einsatzbereit bei der Durchführung der Narkose der Tiere. Die OP-Schwester, allen voran Frau Ursel Tennert, haben jederzeit vorzüglich instrumentiert und in manchen Fällen auch assistiert. Herr Dipl.-Ing. Michael Baer machte durch sein fundiertes technisches Wissen erst eine reibungslose Versuchsdurchführung möglich. Allen, die in diesem tatkräftigen Team mitgewirkt haben, gilt mein Dank.

### **Selbständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, Wassilios Meißner, geboren am 21.04.1971, Wohnhaft Blesener Zeile 22, 13509 Berlin, an Eides statt, daß die hier vorliegende Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades *doctor medicinae* von mir selbst und ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfaßt wurde. Auch in Teilen stellt sie keine Kopie anderer Arbeiten dar und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben.

Berlin, den 02.03.1999

Wassilios Meißner