

Dominik von Malsen-Waldkirch
Dr. med.

Tauroursodesoxycholsäure als neues Protektivum gegenüber Ischämie-Reperfusionsschäden der Leber?

Geboren am 17.05.1978 in Heidelberg
Staatsexamen am 04.05.2006 in Darmstadt (Universität Heidelberg)

Promotionsfach: Chirurgie
Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. M. M. Gebhard

Gallensäuren werden physiologischerweise über die Leber ausgeschieden. Kumulieren sie in der Leber, so wirken sie auf Grund ihres Detergentiencharakters zytotoxisch. Sie führen u.a. zu Apoptose und zur Schädigung von Membranstrukturen der Zelle. Ein neues Behandlungskonzept cholestatischer Lebererkrankungen besteht in der Zufuhr von Ursodesoxycholsäure, UDC, oder ihres Taurin-Konjugats Tauroursodesoxycholsäure, TUDC. UDC und TUDC sind hydrophiler als die Mehrzahl der physiologisch vorkommenden Gallensäuren. Sie wirken choloretisch, werden ebenfalls über die Galle ausgeschieden, und führen zu einer Senkung des Anteils der mehr lipophilen und damit zytotoxischen Gallensäuren im Hepatozyten wie in der Galle. Da Cholestase auch ein Symptom eines schweren Ischämie-Reperfusionsschadens der Leber ist, war es das Ziel der vorliegenden Arbeit zu untersuchen, in wieweit TUDC die Erholung der Leber nach Konservierung durch Hypothermie und Ischämiezeiten von zwei bis zehn Stunden bei 5 °C zu beeinflussen vermag.

Untersuchungsmodell war die Hundeleber, die zunächst in vivo durch Perfusion mit pH-stabilsierter Ringer-Lösung über A. hepatica und V. portae gekühlt, exzidiert, in der gleichen Lösung ischämisch gelagert und anschließend in vitro für mindestens 120 Minuten reperfundiert wurde. TUDC wurde entweder in Dosierungen von 0,1, 1 oder 5 mmol/L der Perfusionslösung oder über die ersten 60 Minuten postischämisch der Reperfusionslösung in einer Dosierung von 10 µmol/min zugesetzt. Untersuchungsparameter waren u.a.

- der postischämische Verlust an Aspartataminotransferase, ASAT, Alaninaminotransferase, ALAT in das Reperfusat sowie an alkalischer Phosphatase, AP, und Gamma-Glutamyltransferase, γ-GT, in die Galle,
- Natriumaufnahme und Kaliumabgabe während konservierender Perfusion und Reperfusion,
- der Gallefluß während Reperfusion

- die postischämische Aufnahme von über A. hepatica und V. portae zugeführtem Indocyaningrün, ICG, in die Leber sowie
- die Ausscheidung von ICG über die Galle.

Die wesentlichen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Steigende Ischämiezeiten führten über 120 Minuten Reperfusion zu steigenden Verlusten an ASAT und ALAT in das Perfusat. Die Aktivitäten betragen nach zwei Stunden kalter Ischämie 31 ± 13 und 36 ± 17 U/kg Leberfeuchtgewicht, nach sechs Stunden kalter Ischämie 36 ± 8 und 56 ± 13 U/kg Leberfeuchtgewicht und nach zehn Stunden kalter Ischämie 324 ± 176 und 517 ± 243 U/kg Leberfeuchtgewicht. Die Ergebnisse streuten jedoch erheblich und waren statistisch nicht zu sichern. Die Verluste von AP und γ -GT in die Galle während 120 Minuten postischämischer Reperfusion betragen nach zwei Stunden Ischämie 1053 ± 250 und 65 ± 8 mU/kg Leberfeuchtgewicht, nach sechs Stunden Ischämie 1709 ± 444 und 117 ± 30 mU/kg Leberfeuchtgewicht und nach zehn Stunden Ischämie 4416 ± 1012 und 208 ± 17 mU/kg Leberfeuchtgewicht. Auch diese Ergebnisse korrelierten statistisch nicht mit der Dauer der jeweils vorangegangenen Ischämie. Die postischämische Natriumaufnahme in die Leber und die Kaliumabgabe aus der Leber während Reperfusion waren gering und korrelierten ebenfalls nicht mit der Dauer der vorangegangenen Ischämie. Während Reperfusion produzierten die Lebern in allen Gruppen vergleichbar viel Galleflüssigkeit. Der mittlere Gallefluß betrug jeweils zwischen 0,7 und 0,8 ml/(min \times kg Leberfeuchtgewicht). Auch die ICG-Aufnahme in die Leber während Reperfusion war in allen Versuchsgruppen vergleichbar und betrug im Mittel 89 % der applizierten Menge. Lediglich die biliäre ICG-Exkretion korrelierte mit der Dauer der vorangegangenen Ischämie und betrug in der Gruppe mit zwei Stunden Ischämie $10,9 \pm 1,0$ mg/kg Leberfeuchtgewicht, in der Gruppe mit sechs Stunden Ischämie $6,6 \pm 1,3$ mg/kg Leberfeuchtgewicht und in der Gruppe mit zehn Stunden Ischämie $1,6 \pm 0,3$ mg/kg Leberfeuchtgewicht ($p < 0,01$ vs. Gruppe 2h bzw. $p < 0,05$ vs. Gruppe 6h).

Wurde der konservierenden Perfusionslösung TUDC zugesetzt, so zeigte sich jeweils unmittelbar und ischämiezeitunabhängig eine Zunahme der hepatozellulären Natriumaufnahme und Kaliumabgabe, die in allen Fällen mit $p < 0,05$ auch statistisch signifikant war. Betrug die TUDC-Konzentration im Perfusat 0,1 oder 1 mmol/L, so bewirkte dies jedoch weder eine Reduktion der Enzymverluste ins Reperfusat oder in die Galle, noch eine Steigerung des Galleflusses, der hepatozellulären ICG-Aufnahme oder der biliären ICG-

Exkretion. Wurde die TUDC-Zufuhr jedoch auf 5 mmol/L in der Perfusionslösung erhöht, wie in der Literatur als sicher tolerabel angegeben, so führte dies nach zehn Stunden kalter Ischämie über 120 Minuten Reperfusionzeit zu signifikant höheren Verlusten an ALAT und ASAT (im Mittel 2301 und 2672 U/kg Leberfeuchtgewicht; jeweils $p < 0,05$ vs. Kontrollgruppe 10h ohne TUDC). Der Gallefluss betrug in der Gruppe 10h/TU-5 $1,0 \pm 0,2$ ml/(min \times kg Leberfeuchtgewicht) und lag damit statistisch in der gleichen Größenordnung wie in der unbehandelten Vergleichsgruppe. Auch die hepatische ICG-Aufnahme war im Vergleich zu den unbehandelten Gruppen statistisch nicht eingeschränkt, die biliäre ICG-Konzentration war dagegen mit im Mittel 0,1 mg/kg Leberfeuchtgewicht signifikant reduziert ($p < 0,05$).

In allen Versuchsgruppen lag der Gehalt der Lebern an Adenosintriphosphat, ATP, nach 120 Minuten Reperfusion mit im Mittel 8,6 mmol/kg Lebertrockengewicht im Normbereich nicht ischämisch belasteter Organe.

Wurde TUDC während der ersten 60 Minuten postischämischer Reperfusion nach zehn Stunden kalter Ischämie in einer Dosierung von 10 μ mol/min zugeführt, so zeigte sich gegenüber der TUDC-freien Vergleichsgruppe keinerlei Unterschied.

In der Hundeleber bewirkt somit präischämische Kühlung durch Perfusion mit einer kalten salinen Lösung, gemessen an Enzymabgabe, Gallefluss und hepatobiliärer Aufnahme und Exkretion von ICG eine Verbesserung der Ischämietoleranz bis zu wenigstens sechs Stunden bei 5 °C. Zehn Stunden kalte Ischämiebelastung führen zu einer signifikanten Reduktion der frühpostischämischen Erholung zunächst der biliären Exkretionsfunktion des Organs. Zugabe von TUDC zur Perfusionslösung hat deutliche Membraneffekte, die sich konzentrationsunabhängig an einer signifikanten Zunahme der Natriumaufnahme in die Leber und Kaliumabgabe aus dem Organ zeigen. In Konzentrationen von 0,1 oder 1 mmol/L TUDC in der Perfusionslösung lagen alle Ergebnisse in derselben Größenordnung wie in den jeweils unbehandelten Gruppen, zeigte TUDC also keinerlei protektiven Effekt. Zugabe von 5 mmol/L TUDC während präischämischer Kältekonservierung führte jedoch zu einer signifikanten Reduktion der postischämischen Organerholung. Als empfindlichster Parameter zur Diagnose der Organschädigung erwies sich dabei die biliäre Ausscheidungskapazität von ICG. Zugabe von TUDC zur Reperfusionlösung zeigte keinerlei spezifische Wirkungen.

Zumindest in der Hundeleber ist TUDC demnach gegenüber einem Ischämie-Reperfusionsschaden nicht protektiv. Außerdem scheint auch die therapeutische Breite der Substanz deutlich niedriger zu liegen als in der Literatur postuliert.