

Genevieve Amma Kyremaah Schindler, geb. Dei-Anane  
Dr. med.

## **Die Verringerung des Ischämie-/Reperfusionsschadens der Leber mittels Therapie-Cocktail: Eine tierexperimentelle Untersuchung.**

Geboren am 13.09.1980 in Akwatia, Ghana  
Staatsexamen am 29.10.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. P. Schemmer

In diese Arbeit wird mit in vivo durchgeführten Tierexperimenten, der Effekt eines Therapie-Cocktails auf den hepatischen IRS und die hepatische Regeneration untersucht.

Um das Ausmaß des IRS zu ermitteln, wurde der linke Leberlappen von weiblichen Sprague-Dawley Ratten einer 90-minütigen warmen Ischämie unterzogen. Zur Präkonditionierung erhielten einige Tiere einen Therapie-Cocktail, bestehend aus Glycin, Taurin, Alanin, Arginin und Prednisolon. Die Tiere der Kontrollgruppen erhielten Ringer-Lösung, um einen Volumeneffekte auszuschließen.

Postischämisch war in den mit dem Therapie-Cocktail behandelten Tieren eine bessere Gewebeprotektion zu beobachten. Verglichen mit unbehandelten, ischämischen Kontrolltieren ergaben sowohl die Serumkonzentration von ALT, AST und LDH als auch die histomorphologischen Veränderungen signifikant geringeren IRS innerhalb der ersten 8 Stunden nach Reperfusion.

Die intravitalmikroskopischen Untersuchungen zur Evaluation der hepatischen Mikroperfusion zeigen, dass durch die Cocktailpräkonditionierung der azinäre Perfusionsindex und die sinusoidale Perfusionsrate um über 30% verbessert werden konnten. Die Auszählung des inflammatorischen Zellinfiltrats, d.h. der adhärenenten Leukozyten, ergab sowohl in der histologischen als auch in der intravitalmikroskopischen Analyse in der Cocktailgruppe beim Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikant verminderte Werte. Die immunhistologisch aufgearbeiteten Gefrierschnitte zur ICAM-1 Analyse hingegen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, was auf den Zeitpunkt der Untersuchung zurückzuführen ist.

Die Injektion von Latex-Beads ermöglichte die Beobachtung der Kupfferzellen, der organständigen Makrophagen der Leber. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die präischämische Gabe des Therapie-Cocktails den Grad der Aktivierung der Kupfferzellen und damit den Leberschaden signifikant herabsetzt. Analog dazu waren auch die Konzentrationen von TNF- $\alpha$  und PGE-2, d.h. von aktivierten Kupfferzellen freigesetzte Inflammationsmediatoren, in der Cocktailgruppe um 86% bzw. 39% niedriger als in der unbehandelten Kontrollgruppe.

Um die erhaltenen Ergebnisse an einem klinisch relevanten Modell zu überprüfen, führten wir eine 30-minütige warme Ischämie von 30%-igem Leberparenchym durch, an die sich eine 70%-iger partielle Hepatektomie der restlichen, nicht ischämischen Leberlappen anschloss. Zur Präkonditionierung erhielten Tiere der Behandlungsgruppe den Therapie-Cocktail und die der Kontroll-Gruppe Ringer-Lösung zum Ausschluss eines Volumeneffektes.

Wider Erwarten, waren hier die Transaminasen- und MDA- (oxidativer Stress Marker) Werte in der Cocktail-Gruppe höher als in der Kontroll-Gruppe, vor allem waren signifikante Erhöhungen 3 Stunden nach Resektion zu beobachten. Dem gegenüber zeigte die histologische Analyse der hepatozellulären Schädigung 8 Stunden nach Resektion signifikant verbesserte Werte in der Cocktail-Gruppe, verglichen mit der Kontroll-Gruppe. Diese zeitlich

abhängige Diskrepanz der Ergebnisse ließ uns annehmen, dass dies auf Vorgänge, die sich zu frühen Zeitpunkten der postresektiven Phase abspielen, zurückzuführen sei. Frühpostoperative Messungen der Blutflussgeschwindigkeit und der Mikroperfusion ergaben als Ursache eine durch die Therapie-Cocktailvorbehandlung bessere Perfusion des verbleibenden Leberparenchyms. Diese Situation scheint nach einem subletalen Eingriff einen unnatürlichen Hyperperfusionstatus des Leberparenchyms darzustellen, was möglicherweise den protektiven Effekt des Therapie-Cocktails zu früheren postoperativen Zeitpunkten aufhebt.

Untersuchungen zur Inflammation in diesem Modell ergaben auch hier eine reduzierte, histologisch zu messende Leukozyteninfiltration und intravitalmikroskopisch beurteilbare Leukozyten-Endothel-Interaktion in der Cocktail-Gruppe. Das Ausmaß an Ödembildung bzw. Zellschwellung, gemessen an dem Nass/Trocken-gewichtsquotienten, ergab keinen Unterschied in den beiden Gruppen. Die Kupfferzellaktivität erwies sich in der mit Cocktail vorbehandelten Gruppe geringer als in der Kontrollgruppe.

Eine signifikant erhöhte Regenerationsfähigkeit anhand der Anzahl von PCNA positiven Zellen in der mit Cocktail vorbehandelten Gruppe zeigte sich unerwartet schon 8 Stunden nach Reperfusion. Dies weist auf einen positiven Einfluss des Therapie-Cocktails auf die hepatische Regenerationdynamik hin.

Die Ergebnisse dieser tierexperimentellen Studie lassen die Schlussfolgerung zu, dass der multimodale Therapie-Ansatz den Leberschaden nach alleiniger warmer Ischämie minimiert. Basierend auf den gewonnenen Daten und in Zusammenschau mit der zur Verfügung stehenden Literatur ist davon auszugehen, dass dies sowohl durch die Verbesserung der Mikrozirkulation als auch durch die Inaktivierung der Kupfferzellen und Reduktion der Leukozyten-Endothel-Interaktion vermittelt wird.

Im Zusammenhang mit der Kombination von warmer Ischämie mit darauf folgender partieller Hepatektomie scheint der IR-protective Effekt des Therapie-Cocktails zu den späteren Zeitpunkten einzusetzen, da es initial zu einem Hyperperfusionssyndrom kommt, und positive Effekte zunächst nicht beobachtet werden. Der Therapie-Cocktail wirkt sich jedoch positiv auf die Regeneration aus. Um eine optimale multimodale pharmakologische Präkonditionierung bei Operationen zu erzielen, sind folglich noch genauere Untersuchungen zur Agenzienkonzentration und gegenseitige Interaktionen notwendig.