

Diplomarbeit

**Experimentelle 24-stündige subnormotherme
Maschinenperfusion nicht allozierbarer, humaner
Lebern: Eine Machbarkeitsstudie**

eingereicht von

Stephanie Schlechter

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

Ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für Transplantationschirurgie

Unter der Leitung von

Assoz. Prof. PD Dr. Philipp Stiegler

Univ.-Ass. Mag.rer.nat. Dr.scient.med. Bettina Leber

Graz, am 02.11.2022

Eidesstattliche Erklärung:

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 02.11.2022

Stephanie Schlechter eh.

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis.....	v
Tabellenverzeichnis	vi
Abbildungsverzeichnis	vii
Diagrammverzeichnis	viii
Abstract (Deutsch).....	ix
1 Einleitung	13
1.1 Die Leber	13
1.2 Einflüsse auf das Lebergewebe	15
1.3 Lebertransplantation	17
1.4 Organlagerung	21
1.5 statische kalte Lagerung.....	23
1.6 MP	25
1.6.1 Normotherme MP	26
1.6.2 Hypotherme MP	26
1.6.3 SNMP	26
1.7 Perfusionslösungen.....	28
1.8 Beurteilung der Lebergewebsqualität.....	33
1.8.1 Einflüsse auf die Leber vor Perfusionsstart.....	33
1.8.2 Perfusatparameter	34
1.9 Zielsetzung dieser Arbeit.....	39
2 Material und Methoden	40
2.1 Studiendesign	40
2.2 Verhalten der Leber von Explantation bis zum Ende der MP	40
2.2.1 Einschätzung der Leber vor Perfusionsbeginn in Hinblick auf den Spender und die Leber	41
2.2.2 Einschätzung des Verhaltens der Leber während Perfusion.....	42
2.3 Nachweis der Leberenzyme im Perfusat	43
2.4 Backtable Präparation.....	44
2.5 MP	45
2.6 Zusatzmaterialien	48
3 Ergebnisse.....	49
3.1 Leberqualität vor Perfusionsstart	49
3.2 Perfusatgasanalyse.....	54
3.3 Galleproduktion.....	60

3.3.1	Druck-/ Flusskurve der versorgenden Lebergefäße.....	63
3.4	Leberenzyme.....	65
3.5	Leberqualität im Verlauf der SNMP	68
4	Diskussion	71
5	Literaturverzeichnis	75

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

- MP- Maschinenperfusion
- SNMP- subnormotherme Maschinenperfusion
- AST- Aspartat- Aminotransferase
- ALT- Alanin- Aminotransferase
- LDH- Laktatdehydrogenase
- GGT- Gamma- Glutamyl-Transferase
- AP- Alkalische Phosphatase
- SOP- Standard Operating Procedure
- CRF- Case Report Form
- RF- Report Form des Spenders
- LV- Liver Assist[®]
- Belzer MPS- Belzer Machine Perfusionsolution
- Custodiol MP- Custodiol Machine Perfusion
- ePOC[®]- Point of Care Blutgasanalyse-System
- BGA- Blutgasanalyse
- pO₂- partieller Sauerstoffdruck
- pCO₂- partieller Kohlenstoffdioxiddruck
- BMI- Body Maß Index

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1 Fallzahlen allgemein im Eurotransplantraum.....	21
Tabelle 2 mit allen verwendeten Perfusionslösungen im klinischen Alltag:.....	28
Tabelle 3 Bestandteile der UW® Maschinenperfusionslösung.....	30
Tabelle 4: Zusammensetzung von HTK®	31
Tabelle 5 Einschätzung des Spenderkörpers zur Beurteilung der Qualität der Leber	42
Tabelle 6 Einschätzung der isolierten Leber zur Beurteilung der Qualität der Leber vor Perfusionsstart.....	42
Tabelle 7 Perfusionslösungen	49
Tabelle 8 Zusammenfassung der qualitativen Ausgangssituation.....	52
Tabelle 9 Darstellung aller Parameter während SNMP	70

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1 Indikationen zur Lebertransplantation	19
Abbildung 2: Beurteilungsschema der Leberqualität	41
Abbildung 3: Kannüllierte Leber.....	44
Abbildung 4 Schematischer Aufbau des Liver Assist® Perfusionssystems.....	45
Abbildung 5: Leber im Liver Assist®.....	46
Abbildung 6: Aufsetzen eines Perfusionsprotokolls.....	48

DIAGRAMMVERZEICHNIS

Diagramm 1: pH-Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)	55
Diagramm 2: BE-Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)	55
Diagramm 3 Gesamtvolumen Natriumbikarbonat.....	56
Diagramm 4: Zugabe von Natriumbikarbonat.....	56
Diagramm 5: pO ₂ -Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD), für Leber 1,2,3,5,6 (Perfusionen mit Custodiol®) sind keine pO ₂ -Werte vorhanden.....	57
Diagramm 6: pCO ₂ -Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)	58
Diagramm 7: Laktatwerte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)	59
Diagramm 8: Glukosewerte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD).....	60
Diagramm 9: Galleproduktion	60
Diagramm 10: Gallenproduktion über 24-Stundenperfusion	61
Diagramm 11 Vergleich Perfusat-/Gallenwerte	62
Diagramm 12 Fluss-/ Widerstandskurve der Leberarterie über 24 Stunden von Leber 1064	
Diagramm 13:Fluss-/Widerstandskurve in der Portalvene über 24 Stunden von Leber	64
Diagramm 15: ALT-Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)	65
Diagramm 16:AST-Werte (MW±SD).....	66
Diagramm 17: LDH-Werte (MW±SD)	66
Diagramm 18: GGT-Werte (MW±SD).....	67
Diagramm 19: AP-Werte (MW±SD).....	68

ABSTRACT (DEUTSCH)

Hintergrund:

Zu den gefährlichsten Pathologien im Bereich der Leber gehört das Leberversagen, welches im weiteren Therapieverlauf eine Lebertransplantation nach sich ziehen kann. Zur Erweiterung des Spenderpools wegen erhöhter Nachfrage und einem unzureichenden Angebot zur Transplantation, gilt die Maschinenperfusion als Möglichkeit Spenderorgane für längere Zeit außerhalb des Körpers für längere Transportwege vital zu halten. Zusätzlich bietet die MP eine Möglichkeit Organe ex-vivo vor einer potenziellen Transplantation beurteilen zu können.

Ziel:

Ziel dieser Studie ist eine retrospektive, experimentelle Aufarbeitung von über EUROTRANSPLANT nicht zur Transplantation allozierbarer humaner Organe, welche 24 Stunden subnormotherm bei 21°C perfundiert werden. Als Ziel dieser Studie gilt es, die Auswirkungen einer 24-stündigen Perfusion zu erfassen und eventuelle Auffälligkeiten bezüglich Materialien und Methoden aufzuzeigen.

Methoden:

Die Qualität der Organe wird in dieser translationalen Beobachtungsstudie vor, während und nach Perfusion beurteilt. Es werden die sechszehn Spender*innen und deren Organe anhand von Eigenschaften wie BMI, Alter, Vorerkrankungen des*der Spenders*Spenderin, Bildung, Dauer der Eislagerung und Grund der Ablehnung des Organs beschrieben. Außerdem werden Perfusatgasanalyseparameter, Leberenzymkonzentrationen und Gallenproduktion über den gesamten Perfusionszeitraum von 24h anhand des verwendeten Perfusats und des Mittelwertes an Stunde 1,6,7 und 24 Stunden untersucht.

Ergebnisse:

Ein Ausgleich des Säure-Basen-Haushalts über 24 Stunden ist mit der Zugabe von Natriumbikarbonat möglich. Die Custodiol MP® Lösung benötigt am meisten Natriumbikarbonat für einen ausgeglichenen Basenüberschuss. Die Zugabe findet vor allem am Anfang und nach Perfusionswechsel statt. Es zeigt sich ein Anstieg der Laktatkonzentrationen über die Zeit, während die Glukosekonzentrationen

konstant hoch bleiben. Die Menge an Galleproduktion über die Zeit präsentiert keine Auffälligkeiten. Die gemessenen Werte in Galle und Perfusat zu den gleichen Zeitpunkten korrelieren nicht miteinander. Die Fluss-/Widerstandswerte über 24 Stunden zeigen keine Schwankungen. Die Leberenzyme steigen über die Zeit und die Ausgangswerte sind viel höher als im Vergleich zu den Standardwerten im Blut.

Konklusion:

Zusammenfassend zeigen die gesammelten Informationen, dass die Lebern mit Steatose den Hauptteil der verwendeten Lebern für die SNMP bilden und daher eine Vorbeschädigung des Gewebes besteht. Ein Ausgleich des Basenüberschusses beziehungsweise des pH-Wertes über die Zeit ist je nach Perfusat über die Zeit unterschiedlich schnell möglich, doch bei allen durchgeführten Maschinenperfusionen ist eine Erhöhung der Leberenzymkonzentrationen sichtbar.

ABSTRACT (ENGLISCH)

Background:

One of the most dangerous pathologies is the liver failure, which in further course of therapy can lead to liver transplantation. To expand the donor pool due to increased demand and insufficient supply for transplantation, machine perfusion is considered a possibility to keep donor organs vital to prolong transportation time. Furthermore, MP offers a possibility to assess organs ex-vivo before a potential transplantation.

Aim:

The aim of this study is a retrospective, experimental processing of human organs that cannot be allocated for transplantation via EUROTRANSPLANT and which are perfused subnormothermally at 21°C for 24 hours. The goal of this study is to record the effects of 24-hour perfusion.

Methods:

The quality of the organs will be assessed before, during and after perfusion in this translational observational study. The 16 donors and their organs are described based on characteristics such as BMI, age, previous illnesses of the donor, imaging, duration of ice storage and reason for the rejection. In addition, perfusate parameters, liver enzyme concentrations and bile production are examined over the perfusion period of 24 hours using perfusate and mean value at hours 1, 6, 7 and 24.

Results:

An acid-base balance over 24 hours is possible with addition of sodium bicarbonate. The Custodiol MP[®] solution requires the most sodium bicarbonate. The addition takes place at the beginning and after perfusion change. An increase of lactate concentrations over time is visible, while glucose concentrations remain consistently high. The amount of bile production over time presents no abnormalities. The values measured in bile and perfusate at the same times do not correlate with each other. Flow/resistance values over 24 hours show no fluctuations. Liver enzymes rise over time and baseline levels are much higher as compared to blood standard levels.

Conclusion:

Considering all information collected, livers with steatosis constitute most of the livers and therefore there is pre-damage to the tissue. Depending on the perfusate, an equalization of the base excess or the pH-value over time is possible quickly over time, but an increase in the liver enzyme concentrations is visible in all perfusions that have been carried out.

1 EINLEITUNG

Steatose und Zirrhose gehören zu den wichtigsten Pathologien in der Leber. Als mögliche Komplikation können diese Pathologien eine Leberinsuffizienz hervorrufen, die im weiteren Krankheitsverlauf eine Lebertransplantation unumgänglich machen. Durch erhöhte Nachfrage und einem zu geringen Angebot an Spenderorganen, sind Methoden notwendig, um das Angebot zu vergrößern¹. Seit 1960 wird die statische kalte Lagerung als bevorzugte Variante für Lagerung und Transport eines Organs von Spender*innen zu Empfänger*innen verwendet. Die Maschinenperfusion würde es dennoch möglich machen, die Lagerungsdauer einer Leber außerhalb des Körpers zu verlängern, um die Anzahl an verfügbaren Organen zu erhöhen. Es konnten erste Erfolge in verschiedenen Studien bei der Durchführung von Maschinenperfusionsen erzielt werden, sodass die Maschinenperfusion eine wertvolle Alternative zur konservativen statischen kalten Lagerung ist.

1.1 DIE LEBER

Die Leber ist, mit einem durchschnittlichen Gewicht von 1500 Gramm, das größte Organ im menschlichen Körper. Sie befindet sich unter der rechten Zwerchfellkuppe und liegt hauptsächlich intraperitoneal. Unterteilt wird sie in einen rechten und einen linken Lobus durch die Ligamente falciforme und teres hepatis. Die Facies viszeralis bildet die Unterfläche der Leber, in der die Leberpforte eingebettet ist. In die Leberpforte treten die Arterie hepatica propria, die Portalvene, der Ductus hepaticus communis und Nervenfasern ein und aus². Die Leber wird unter anderem als exokrine Drüse und Stoffwechselorgan bezeichnet, da sie unter anderem Galle produziert. Die Galle wird über die Gallengänge in den Darm abgegeben. Die Portalvene, die aus dem Darm resorbierte Nahrungsbestandteile erhält, transportiert diese Bestandteile zur Weiterverarbeitung in die Leber.³

¹ Zoltan Czigany et al., "Machine perfusion for liver transplantation in the era of marginal organs-New kids on the block," *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 39, no. 2 (2019).

² Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

³ Henrik Holtmann et al., *Mediscript Kurzlehrbuch Histologie: Mit 17 Tabellen ; [Plus im Web ; mediscript*, 1st ed. (München: Elsevier Urban & Fischer, 2013).

Zum Leberparenchym zählen die Leberzellen und die Gefäß- und Bindegewebsstrukturen⁴.

Zu den Zellen des Leberparenchyms gehören die Hepatozyten, die Sinusendothelzellen, die Kupffer- Zellen (leberspezifische Makrophagen), die hepatischen Sternzellen (Fettspeicherzellen) und die Pit-Zellen (leberspezifische natürliche Killerzellen).⁵

Primär besteht die Leber aus Hepatozyten, die metabolischen Funktionen übernehmen wie zum Beispiel: Metabolisierung von Nährstoffen, Biotransformation lipophiler beziehungsweise hydrophober Stoffe in hydrophilere Stoffe, Sekretion und Bildung der Galle, Abbau von Hormonen und Signalstoffen, Säure- Basen- Regulation und Sekretion der Akut- Phase Proteine und Komplementfaktoren. Des Weiteren produziert die Leber Plasmaproteine, wie zum Beispiel Albumin und Fibrinogen. Sinusendothelzellen kleiden die Lebersinusoide aus und stellen eine Verbindung zwischen dem Raum zwischen den Hepatozyten her. Die Kupffer- Zellen befinden sich im Lumen der Sinusoide. Sie gehören zum Immunsystem und geben Signalstoffe ab, eliminieren Toxine, synthetisieren Matrixkomponenten und präsentieren Antigen.⁶ Die sternförmigen Fettspeicherzellen umgreifen mit ihren Ausläufern die Sinusoide. Dadurch können diese durch Kontraktion den Blutfluss in den Sinusoiden beeinflussen. Darüber hinaus speichern die Zellen hauptsächlich Vitamin A. Unter pathologischen Bedingungen sind diese die Hauptproduzenten der extrazellulären Matrix im Raum zwischen den Hepatozyten und tragen dadurch maßgeblich zur Leberzirrhose bei⁷.

Der Großteil der Lebererkrankungen geht mit einer Funktionsstörung oder - einschränkung der Hepatozyten einher. Die zerstörten Hepatozyten setzen hepatozelluläre Enzyme frei, die eine direkte Hepatozytenschädigung anzeigen. Zu diesen Enzymen gehören: AST (Aspartat- Aminotransferase), ALT (Alanin- Aminotransferase) und LDH (Laktatdehydrogenase). Diese sonst im Zytoplasma lokalisierten Enzyme werden bei Leberzellschäden mit

⁴ R. Saxena, N. D. Theise, and J. M. Crawford, "Microanatomy of the human liver-exploring the hidden interfaces," *Hepatology (Baltimore, Md.)* 30, no. 6 (1999).

⁵ Henrik Holtmann et al., *Mediscript Kurzlehrbuch Histologie: Mit 17 Tabellen ; [Plus im Web ; mediscript]*, 1st ed. (München: Elsevier Urban & Fischer, 2013).

⁶ "XXIX. The anatomy and physiology of the liver," *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 123 (1833).

⁷ Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

Membranpermeabilitätsstörung in das Perfusat ausgeschwemmt⁸. GGT (gamma-Glutamyl Transferase) und AP (alkalische Phosphatase) sind Cholestaseenzyme und Indikatoren für eine Cholestase. Die klinische Einteilung in verschiedene Lebererkrankungen nach dem Perfusatenzymmuster erfolgt in: hepatozelluläre Schädigung, Cholestase und toxische und infiltrative Schädigung. Eine hepatozelluläre Schädigung zeigen besonders der Anstieg der Transaminasen (ALT, AST), eine Cholestase der Anstieg von GGT und AP und toxischen und infiltrativen Schädigung das GGT. Ob man diese Einteilung für die Beurteilung der MP übernehmen kann, kann mithilfe eines Vergleichs der Gewebeproben und der Leberenzymkonzentrationen untersucht werden.

Referenzbereiche der Leberenzyme im Blut aus den ET Reports:

Leberenzyme	Referenzbereiche in U/l
AST	0-30
ALT	0-35
LDH	50-300
GGT	0-35
AP	0-150

1.2 EINFLÜSSE AUF DAS LEBERGEWEBE

Alter, Vorerkrankungen und Body Maß Index der Spender*innen spielen eine entscheidende Rolle, da sie Veränderungen im Lebergewebe verursachen, die eine Perfusionsperiode beeinflussen können.

Laut der Studie von Raquel Maeso-Díaz et al.⁹ gibt es sehr wenig Informationen über die Funktionen und die möglicherweise veränderten Gewebsstrukturen des Lebergewebes bei Menschen ab 65 Jahren. Sein Team beurteilte den Phänotyp einer gealterten Leber bei Ratten und kam zu dem Ergebnis, dass gesundes Altern eine hepatische und sinusoidale Dysfunktion bedeutet. Es kommt zu einem gesteigerten vaskulären Widerstand und Portalvenendruck in der Leber. Dies führte zur Schlussfolgerung, dass das Alter mit einer signifikanten Deregulation in den

⁸ Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

⁹ Raquel Maeso-Díaz et al., "Effects of aging on liver microcirculatory function and sinusoidal phenotype," *Aging cell* 17, no. 6 (2018).

hepatischen sinusoidalen Gefäßen einhergeht. Darüber hinaus fand die Studie von Douglas L. und Schmucker¹⁰ heraus, dass Lebererkrankungen im Alter bedeutend häufiger werden. Es kommt zu einer Abnahme des Lebervolumens, einer Steigerung von Lipofuscin im Lebergewebe, einer Umverteilung in der Expression von verschiedenen Proteinen, einer Reduktion der hepatobiliären Funktion, einer Verminderung der hepatischen Regenerationsleistung und zu einer Steigerung der Anfälligkeit für verschiedene Lebererkrankungen.

Vorerkrankungen können die Funktionen des Lebergewebes beeinflussen, da es im Lebergewebe zu histologischen und physiologischen Veränderungen während des Krankheitsverlaufs kommt. Die Vorerkrankungen betreffen entweder direkt das Lebergewebe, wie zum Beispiel virale Hepatitiden, Autoimmunerkrankungen, die sich primär in der Leber manifestieren, Leberzirrhose (alkoholisch oder nicht-alkoholisch bedingt), oder indirekt auf systemische Vorerkrankungen, wie zum Beispiel Vaskulitiden, Tumore, Herz-Kreislaufkrankungen, Diabetes und ähnliches. Außerdem beeinflusst Diabetes Mellitus Typ 2, im Körper die Verteilung des Fettgewebes und kann zu einer Steatohepatitis führen¹¹.

Der BMI (Body Mass Index) ist eine Orientierungshilfe zur Beurteilung des Körpergewichts einer Person und kann ein Indikator für die Fettleibigkeit einer Person sein. Unter Fettleibigkeit versteht man, einen erhöhten Fettgewebsanteil im Körper, welches sich an den Viszeralorganen anlagert. Überschüssige freie Fettsäuren werden in das portalvenöse System freigesetzt und in weiterer Folge werden diese freien Fettsäuren im Gewebe eingelagert was zu einer milden, chronischen Entzündung im Lebergewebe, und einem Fortschreiten der Leberschädigung führt. Die nicht-alkoholische Fettleber ist die häufigste Lebererkrankung und kann sich im besten Fall in einer leichten Steatose und im gefährlichsten Fall in einer fulminanten nicht-alkoholischen Steatohepatitis manifestieren. Dies ist in den meisten Fällen auf ein metabolisches Syndrom zurückzuführen. 80% der Personen mit nicht-alkoholischer Steatohepatitis haben einen BMI über 30 kg/m². Daher wird in dieser Studie unter anderem der Body Maß

¹⁰ Douglas L. Schmucker, "Age-related changes in liver structure and function: Implications for disease?," *Experimental gerontology* 40, 8-9 (2005).

¹¹ Sandra Milić, Davorka Lulić, and Davor Štimac, "Non-alkoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations," *World journal of gastroenterology* 20, no. 28 (2014).

Index des Spenders verwendet, um den Zustand des Lebergewebes vor der MP zu bewerten¹².

1.3 LEBERTRANSPLANTATION

Die Lebertransplantation gilt zum jetzigen Zeitpunkt als der Goldstandard bei Patient*innen mit diagnostizierter Leberzirrhose, chronischer Lebererkrankung, akutem irreversiblen Leberversagen, hepatozellulärem Karzinom und metabolisch bedingten Lebererkrankungen 13 (siehe

akutes Leberversagen	Hepatitis A/B
	Intoxikation
	Morbus Wilson
	Budd-Chiari Syndrom
chronisches Leberversagen : nicht-cholestatische Zirrhose	Hepatitis B/C
	Autoimmunhepatitis
	Alkoholinduzierte Zirrhose
chronisches Leberversagen: cholestatische Zirrhose	Primäre biliäre Zirrhose
	Primäre sklerosierende Cholangitis
	Sekundäre biliäre Zirrhose
chronisches Leberversagen: metabolisch	Morbus Wilson
	Hämochromatose
	Alpha1- Antitrypsin Mangel
	Amyloidose
	Mukoviszidose
chronisches Leberversagen: vaskulär	Tyrosinämie
	Budd-Chiari Syndrom
andere Indikationen	Primäre Hyperoxalurie
	Glykogenspeichererkrankungen
	Hyperlipidämie
	Polyzystische Lebererkrankung
maligne Erkrankungen	Hepatozelluläres Karzinom
	Fibrolamelläres Karzinom
	Hepatoblastom
	Maligne epitheloide Hämangioendotheliom
	Cholangiozelluläres Karzinom
benigne Lebertumore	Neuroendokrine Lebermetastasen
	Familiäre adenomatöse Polyposis

¹² Sandra Milić, Davorka Lulić, and Davor Štimac, "Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations," *World journal of gastroenterology* 20, no. 28 (2014).

¹³ Alyson N. Fox and Robert S. Brown, "Is the patient a candidate for liver transplantation?," *Clinics in liver disease* 16, no. 2 (2012).

Abbildung 1). Die Lebertransplantation sollte für jede*n Patient*in, bei dem, durch eine Transplantation eine längere Lebensdauer oder eine höhere Lebensqualität erreicht werden kann, in Betracht gezogen werden. Sowohl in den Eurotransplantraum als auch in den Gebieten von UNOS (United network for Organ sharing) sind chronische virale Hepatitis und Alkoholmissbrauch die Hauptursachen für eine Lebererkrankung im Endstadium und machen 70% der Indikationen für eine Lebertransplantation aus¹⁴.

Im Jahr 2020 waren Fibrose und Zirrhose im Eurotransplantraum die häufigsten Indikationen für Neulistung für eine Lebertransplantation (301 Fälle) gefolgt von alkoholischen Lebererkrankungen (266 Fälle) und bösartigen Neubildungen der Leber oder intrahepatischen Gallengänge (235).¹⁵.

¹⁴ Samir Zakhari, "Bermuda Triangle for the liver: alcohol, obesity, and viral hepatitis," *Journal of gastroenterology and hepatology* 28 Suppl 1 (2013).

¹⁵ Statista, "Häufigste Indikationen bei Neuanmeldungen für eine Lebertransplantation im Rahmen von Eurotransplant im Jahr 2020," *Eurotransplant* (2021).

akutes Leberversagen	Hepatitis A/B
	Intoxikation
	Morbus Wilson
	Budd-Chiari Syndrom
chronisches Leberversagen : nicht-cholestatische Zirrhose	Hepatitis B/C
	Autoimmunhepatitis
	Alkoholinduzierte Zirrhose
chronisches Leberversagen: cholestatische Zirrhose	Primäre biliäre Zirrhose
	Primäre sklerosierende Cholangitis
	Sekundäre biliäre Zirrhose
chronisches Leberversagen: metabolisch	Morbus Wilson
	Hämochromatose
	Alpha 1- Antitrypsin Mangel
	Amyloidose
	Mukoviszidose
Tyrosinämie	
chronisches Leberversagen: vaskulär	Budd-Chiari Syndrom
andere Indikationen	Primäre Hyperoxalurie
	Glykogenspeichererkrankungen
	Hyperlipidämie
	Polyzystische Lebererkrankung
maligne Erkrankungen	Hepatozelluläres Karzinom
	Fibrolamelläres Karzinom
	Hepatoblastom
	Maligne epitheloide Hämangioendotheliom
	Cholangiozelluläres Karzinom
	Neuroendokrine Lebermetastasen
benigne Lebertumore	Familiäre adenomatöse Polyposis

Abbildung 1 Indikationen zur Lebertransplantation ¹⁶

Francis Moore führte im Jahre 1958 die erste bekannte Lebertransplantation an Hunden durch. Hier beschrieb er erstmals eine Technik der orthotopen Lebertransplantation¹⁷. Aus dem Jahre 1963 gibt es Aufzeichnungen von Starzl und seinem Team über die erste Lebertransplantation an einem Menschen¹⁸. Das Hauptaugenmerk wurde zu Beginn sowohl auf die chirurgisch, technischen Probleme, als auch auf das Problem der immunologischen Abstoßungsreaktion

¹⁶ Stefan Farkas, Christina Hackl, and Hans J. Schlitt, "Overview of the indications and contraindications for liver transplantation," *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 4, no. 5 (2014).

¹⁷ Roberto F. Meirelles Júnior et al., "Liver transplantation: history, outcomes and perspectives," *Einstein (Sao Paulo, Brazil)* 13, no. 1 (2015).

¹⁸ T. E. STARZL et al., "HOMOTRANSPLANTATION OF THE LIVER IN HUMANS," *Surgery, gynecology & obstetrics* 117 (1963).

gelegt. Die ersten fünf Patient*innen starben spätestens nach fünf Tagen an einer Lungenembolie. Dennoch war dadurch der Grundstein für weitere Transplantationen gelegt und vor allem Starzl und sein Team führten über 1179 erfolgreiche Lebertransplantationen durch. 73% aller Patient*innen überlebten zwischen ein bis fünf Jahre.¹⁹ Von 1963 bis 2019 wurden in Deutschland insgesamt 139.074 Organtransplantationen, davon 26.269 Lebertransplantationen, durchgeführt²⁰.

Durch die Verbesserung der Operationstechniken und eine effizientere Nachversorgung stieg die Posttransplantations-Lebenszeit, während die Mortalitätsrate sank. Dennoch steht das Feld der Lebertransplantation vor der großen Herausforderung, durch die stetig steigende Nachfrage die Zahl an verfügbaren Spender*innen zu vergrößern²¹. Um mehr Organe verfügbar zu machen, ist es nötig an einem besseren Spendermanagement oder einer Verbesserung in der Beschaffung und Erhaltung der Organe und deren Qualität zu arbeiten. Des Weiteren wird auch an der Verbesserung der Lebendorganspenden und einer Ausweitung der Spenderkriterien geforscht²².

Eine Organspende kann entweder nach einem Hirntod oder nach einem Herzkreislaufstillstand des Spenders*der Spenderin erfolgen. Der Hirntod wird definiert als ein irreversibler Verlust der Hirnfunktionen, insbesondere im Stammhirn, ausgelöst durch einen primären Hirnschaden oder -erkrankung. Bei einem Herzkreislaufstillstand wird die Organentnahme erst nach einer gewissen Zeitspanne (eine permanente kardiale Pause mit einer definierten Periode) durchgeführt, welche national reguliert wird. Derzeit werden mehrheitlich Transplantate von hirntoten Spendern verwendet. Die unzureichende Anzahl an

¹⁹ Roberto F. Meirelles Júnior et al., "Liver transplantation: history, outcomes and perspectives," *Einstein (Sao Paulo, Brazil)* 13, no. 1 (2015).

²⁰ Eurotransplant, "Gesamtzahl der Organtransplantationen in Deutschland im Zeitraum von 1963 bis 2019 nach Organen: Gesamtzahl der Organtransplantationen in Deutschland nach Organen bis 2019," (1963-2019).

²¹ Roberto F. Meirelles Júnior et al., "Liver transplantation: history, outcomes and perspectives," *Einstein (Sao Paulo, Brazil)* 13, no. 1 (2015).

²² Ahmer M. Hameed, Wayne J. Hawthorne, and Henry C. Pleass, "Advances in organ preservation for transplantation," *ANZ journal of surgery* 87, no. 12 (2017).

transplantablen Lebern von hirntoten Spendern führt dazu, dass immer mehr Länder der Organspende nach Herzkreislaufstillstand zustimmen.²³

Tabelle 1 Fallzahlen allgemein im Eurotransplantraum

	Österreich 2021	Eurotransplant 2021
Anzahl der Lebertransplantationen von hirntoten Spendern ²⁴	150	1514
Anzahl der Lebertransplantationen von Patienten mit Herzkreislaufstillstand ²⁵	2	186
Registrierte Personen auf der Warteliste für eine Leber (Ende 2021) ²⁶	91	1408

Legende: Eurotransplantraum: Deutschland, Niederlande, Belgien, Ungarn, Kroatien, Slowenien, Luxemburg, Österreich

In einigen Ländern, im Eurotransplantraum, ist die Spende nach Herzkreislaufstillstand nicht erlaubt (Deutschland, Ungarn). In den Ländern, die Organe nach Herzkreislaufstillstand akzeptieren, gibt es deutliche Unterschiede in der Häufigkeit der Durchführungen. Beispielsweise wurden in den Niederlanden 151 Spenden nach Herzkreislaufstillstand und nur 100 nach Hirntod durchgeführt. In Österreich hingegen wurden 150 Spenden nach Hirntod und nur 2 Spenden nach Herzkreislaufstillstand durchgeführt.

1.4 ORGANLAGERUNG

Der deutsche Wissenschaftler Loebel beschrieb 1849 erste Versuche zu isolierten Organperfusionen²⁷. Im Jahre 1885 begannen die ersten Versuche zu geschlossenen artifiziellen Zirkulationssystemen, in denen Blut als

²³ Andreas Elmer et al., "Organ donation after circulatory death as compared with organ donation after brain death in Switzerland - an observational study," *Swiss medical weekly* 152 (2022).

²⁴ Eurotransplant International Foundation, "Liver transplants in All ET, by year, by donor type, by organ combination," 2022, statistics.eurotransplant.org.

²⁵ Eurotransplant International Foundation, "Non-heartbeating transplants in 2021, by donor country, by organ combination, by transplant country," 2022, https://statistics.eurotransplant.org/index.php?search_type=&search_organ=liver&search_region=&search_period=2021&search_characteristic=transplants&search_text=&search_collection=

²⁶ Eurotransplant International Foundation, "Active liver waiting list (at year-end) in 2021, by country, by organ combination," 2022, statistics.eurotransplant.org, accessed January 2022.

²⁷ Xiaodong Yuan et al., "Machine perfusion or cold storage in organ transplantation: indication, mechanisms, and future perspectives," *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 23, no. 6 (2010).

Perfusionslösung verwendet wurde. Da für diese Versuche eine große Menge Blut nötig war, wurde sukzessive auf chemisch aufbereitete Perfusionslösungen umgestellt.

1876 wurde versucht, die Organe bei Raumtemperatur zu perfundieren, doch man spekulierte schon in dieser Zeit, ob die Kühlung der Organe zu einer Verringerung der Organschäden durch Reduktion des zellulären Metabolismus führen könnte.²⁸

Erst in den 1960er Jahren, ungefähr mit Start der Organtransplantationen, fanden die ersten Experimente zur kontinuierlichen Perfusion statt, die für drei bis fünf Tage erfolgreich waren. Jedoch verlangte dieses Prozedere eine Vielzahl an kostspieligem und aufwändigem Equipment, welches die Durchführung limitierte, sowie den Transport von Organen erheblich erschwerte. Deshalb konzentrierten sich die Forschungen von da an auf die statische kalte Lagerung. Nach Explantation wurde eine kalte Lösung durch die Arterie gespült²⁹ und in einem Bad mit Lagerungsflüssigkeit auf Eis konserviert. Die Einfachheit dieser Methode und der simple Transport sorgten lange Zeit dafür, dass die Idee der MP nicht weiterverfolgt wurde. Studien verglichen die MP mit der statischen kalten Lagerung fanden aber keine Vorteile von maschinell perfundierten Nieren gegenüber Nieren in statischer kalter Lagerung³⁰.

Zwischen 1960 und 1990 wurde an verschiedensten Ansätzen geforscht, um einen Gewebsabbau möglichst auch bei statischer kalter Lagerung zu verhindern. Eine Lösung, die bis heute an vielen Kliniken verwendet wird, wurde Mitte der 1980er Jahre an der Universität in Wisconsin hergestellt und basiert auf Laktationat während bis dahin verwendete Lösungen auf Histidin- Tryptophan- Ketoglutarat basierten³¹. Bis heute gibt es in der Frage nach der optimalen Perfusionslösung keine einheitliche Meinung und die verschiedenen Lösungen müssen weiterhin optimiert

²⁸ Lei Jing et al., "Organ preservation: from the past to the future," *Acta pharmacologica Sinica* 39, no. 5 (2018).

²⁹ Jonathan F. McAnulty, "Hypothermic organ preservation by static storage methods: Current status and a view to the future," *Cryobiology* 60, 3 Suppl (2010).

³⁰ Xiaodong Yuan et al., "Machine perfusion or cold storage in organ transplantation: indication, mechanisms, and future perspectives," *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 23, no. 6 (2010).

³¹ Jonathan F. McAnulty, "Hypothermic organ preservation by static storage methods: Current status and a view to the future," *Cryobiology* 60, 3 Suppl (2010).

werden, um die Lagerungszeit verlängern und die Qualität und Funktion der Organe erhalten zu können³².

Heutzutage wird bei Lebertransplantationen noch immer die statische kalte Lagerung verwendet, da durch schnelles Kühlen die Gewebeschädigung verlangsamt wird. Ab den 2000er Jahren wurde die Forschung an der MP wieder aufgegriffen, um die Überlebensspanne eines Organs erheblich gesteigert wird. Die Bereitstellung von Sauerstoff und Nährstoffen über einen längeren Zeitraum wurde als vorteilhaft für das Organüberleben angesehen. Studien zeigen, dass die kontinuierliche MP in der Zukunft der Transplantationsmedizin einen entscheidenden Einfluss auf die verwendbaren Organe haben könnte.³³

1.5 STATISCHE KALTE LAGERUNG

Die statische kalte Lagerung einer Leber sollte maximal 15 Stunden dauern. Eine Verlängerung der Konservierungszeit würde eine Störung der zellulären Atmung, oxidativen Stress und eine Induktion von Entzündungsreaktionen bedeuten³⁴. Es wird vermutet, dass Transplantatversagen durch eine nicht optimale Lagerung und schädigende Reperfusionprozesse entstehen, sodass ex vivo Leberperfusionen eine potenzielle Alternative zur statischen kalten Lagerung sind.³⁵

Die Spenderorgane werden mit kalter Lösung perfundiert, die eine Hypothermie im Gewebe hervorrufen soll. Der Blutfluss wird gestoppt und es kommt zu einer zeitnahen vaskulären Spülung, um das Gewebe zu kühlen, Blutkomponenten zu entfernen und das Gewebe an die Lösung zu gewöhnen³⁶. Nach der Perfusion wird das Organ in einer Konservierungsflüssigkeit in einem sterilen Plastikbeutel auf Eis konserviert, bis dieses im Empfängerkörper implantiert werden kann³⁷.

³² Alexander Petrenko et al., "Organ Preservation into the 2020s: The Era of Dynamic Intervention," *Transfusion medicine and hemotherapy : offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie* 46, no. 3 (2019).

³³ Jonathan F. McNulty, "Hypothermic organ preservation by static storage methods: Current status and a view to the future," *Cryobiology* 60, 3 Suppl (2010).

³⁴ Aneta Ostróžka-Cieślak, Barbara Dolińska, and Florian Ryszka, "Tips for optimizing organ preservation solutions," *Acta biochimica Polonica* 65, no. 1 (2018).

³⁵ A. S. Barbas et al., "Ex-vivo liver perfusion for organ preservation: Recent advances in the field," *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)* 30, no. 3 (2016).

³⁶ Mark-Hugo J. Maathuis, Henri G. D. Leuvenink, and Rutger J. Ploeg, "Perspectives in organ preservation," *Transplantation* 83, no. 10 (2007).

³⁷ Ahmer M. Hameed, Wayne J. Hawthorne, and Henry C. Pleass, "Advances in organ preservation for transplantation," *ANZ journal of surgery* 87, no. 12 (2017).

Schäden passieren sowohl im Rahmen der Explantation, bei der Kühlung der Organe als auch während der Reimplantation. Bei der Kühlung der Organe kommt es nicht nur zu einem anaeroben Metabolismus in den Zellen, sondern auch zu einer Reduktion der metabolischen Rate. Die zellulären Prozesse laufen auf einem sehr langsamen Level weiter und führen zum Verbrauch von ATP und Akkumulation von Milchsäure. Der Abbau von ATP führt zur Störung der Natrium Kalium Pumpfunktion in der Zellmembran und damit einhergehend zum Verlust der physiologischen Elektrolytgradienten. Dies bedingt im weiteren Verlauf zelluläre Ödeme und Kalziumeinstrom in die Zelle. Diese Prozesse initiieren proteolytische Kaskaden, die Entzündung und Zelltod zur Folge haben.

Während der Implantation, also bei Reperfusion, kommt Sauerstoff in die zerstörte zelluläre Umgebung, und führt so zur Entstehung von freien Sauerstoffradikalen. Diese freien Sauerstoffradikale beschädigen die Membranlipide und es kommt zu einer weiteren zellulären Destruktion. Darüber hinaus sezernieren aktivierte Kupffer Zellen Zytokine wie TNF-alpha und Interleukin-1, die eine Migration von neutrophilen Granulozyten induzieren und eine tiefgreifende Entzündungsreaktion auslösen³⁸. Es entstehen also Prozesse, die Zelltod und eine Destruktion des Gewebes hervorrufen, sodass die Optimierung dringend nötig ist.

Einer der Vorteile der statischen kalten Lagerung ist, dass die Durchführung, weltweit anwendbar ist und der Transport kein Hindernis darstellt. Des Weiteren reduziert die statische kalte Lagerung die metabolische Rate der Organe soweit, dass es bei gesunden Lebern zu einer Hemmung zellulärer Ödeme und ischämischen Schäden kommen kann.³⁹ Bei einer Temperatur von 4°C kommt es zur Unterdrückung des Metabolismus. Sowohl die Temperatur als auch die Perfusionslösung soll die maximal mögliche Dauer der statischen kalten Lagerung verlängern und Schäden am Lebergewebe verringern⁴⁰.

Ein Nachteil der statischen kalten Lagerung ist, dass die Organfunktion und Vitalität des Organs nicht messbar ist⁴¹. Außerdem können potenziell schädliche

³⁸ A. S. Barbas et al., "Ex-vivo liver perfusion for organ preservation: Recent advances in the field," *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)* 30, no. 3 (2016).

³⁹ Jonathan F. McNulty, "Hypothermic organ preservation by static storage methods: Current status and a view to the future," *Cryobiology* 60, 3 Suppl (2010).

⁴⁰ Mark-Hugo J. Maathuis, Henri G. D. Leuvenink, and Rutger J. Ploeg, "Perspectives in organ preservation," *Transplantation* 83, no. 10 (2007).

⁴¹ Lei Jing et al., "Organ preservation: from the past to the future," *Acta pharmacologica Sinica* 39, no. 5 (2018).

Substanzen nicht entfernt werden, um eine Verschlechterung der Organqualität des zu verhindern⁴². Darüber hinaus kann es bei dieser Art der Lagerung zu einem Kollabieren der Gefäße kommen, da das Gefäßvolumen nicht aufrechterhalten werden kann.⁴³ Somit ist die statische kalte Lagerung in ihrer Dauer limitiert und die Implantation muss möglichst zeitnah stattfinden, um eine frühe Transplantatdysfunktion zu vermeiden.

Unterschiede in der Organqualität haben außerdem zur Folge, dass Organe unterschiedlich auf eine hypotherme Ischämie reagieren. Dadurch neigen auch qualitativ hochwertige Organe, bei Reperfusion zu einer Schwellung der Zellen, einer Azidose und Produktion von freien Radikalen⁴⁴. Die Konservierung ist vor allem für vulnerable Organe, die durch Vorerkrankungen der Spender*innen vorgeschädigt sind, nicht geeignet, da es in den Zellen solcher Organe durch die Konservierung zu weiteren Schädigungen kommen kann⁴⁵⁴⁶.

1.6 MP

Im Zuge der MP kann bei einer Leber entweder die Portalvene einzeln oder beide zuführenden Lebergefäße (Portalvene, Leberarterie) kanüliert werden, um die kontinuierliche Perfusion der Organe zu ermöglichen. Das Perfusat tritt aus der unteren Hohlvene aus und wird im geschlossenen Kreislauf wieder in die zuführenden Gefäße gepumpt. Die Maschinenperfusion bietet die Möglichkeit Konservierungsverletzungen vorzubeugen und Ischämie-Reperfusionsschäden zu minimieren. Diese Methode birgt unter anderem die Vorteile, der Energieversorgung im Gewebe, um den zellulären Metabolismus aufrecht zu erhalten und toxische Substanzen entfernen zu können.

⁴² José L. E. Cobo and Francisco del Río Gallegos, "Preservación de órganos," *Medicina Intensiva* 33, no. 6 (2009).

⁴³ Ahmer M. Hameed, Wayne J. Hawthorne, and Henry C. Pleass, "Advances in organ preservation for transplantation," *ANZ journal of surgery* 87, no. 12 (2017).

⁴⁴ Mark-Hugo J. Maathuis, Henri G. D. Leuvenink, and Rutger J. Ploeg, "Perspectives in organ preservation," *Transplantation* 83, no. 10 (2007).

⁴⁵ S. op den Dries et al., "Ex vivo Normothermic Machine Perfusion and Viability Testing of Discarded Human Donor Livers," *American Journal of Transplantation* 13, no. 5 (2013), <http://dx.doi.org/10.1111/ajt.12187>.

⁴⁶ Jens Brockmann et al., "Normothermic Perfusion," *Annals of surgery* 250, no. 1 (2009), <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181a63c10>.

1.6.1 Normotherme MP

Die normotherme MP bei 37°C kommt in klinischen Studien in Europa und Nordamerika sehr häufig zum Einsatz. Diese Methode kann Dauer der statischen kalten Lagerung und damit Hypoxie bedingte Schädigungen minimieren. Es kann möglichst schnell eine normale Organfunktion unter annähernd physiologischen Bedingungen erreicht werden. Während der Perfusion werden Sauerstoff und Nährstoffe bereitgestellt sowie auch Druck und Flussparameter reguliert, um eine möglichst physiologische Umgebung zu schaffen⁴⁷. Darüber hinaus gibt es, während der MP Möglichkeiten, die Funktionsfähigkeit des Organs zu bestimmen und eventuell die Organe durch Interventionen zu modifizieren⁴⁸.

1.6.2 Hypotherme MP

Die hypotherme MP bei 4°C, ist mittlerweile die häufigste klinische Perfusionstechnik im Setting der Nierentransplantation. Im Rahmen von Lebertransplantationen gibt es bis jetzt vielversprechende präklinische Studien, die die Sicherheit und Potenzial der hypothermen MP hervorheben. Die großen Vorteile der hypothermen MP sind vor allem die Wiederherstellung des zellulären Energielevels, während eine niedrige metabolische Rate erhalten bleibt, eine Verbesserung der Mikrozirkulation im Lebergewebe und in den Gallengängen, sowie eine Verringerung der Akkumulation von Entzündungsmediatoren⁴⁹. Des Weiteren schützt die Oxygenierung unter hypothermen Bedingungen durch Herunterregulierung der mitochondrialen Aktivität vor Reperfusion vor mitochondrialen und nukleären Schädigungen und vermeidet einen endothelialen Schaden⁵⁰.

1.6.3 SNMP

In Rahmen dieser Studie wird die SNMP bei 21°C durchgeführt. Bei dieser Temperatur kommt es im Transplantat zu erhöhter zellulärer und metabolischer Aktivität im Vergleich zur hypothermen MP bei 4°C. Dies ermöglicht ein kontinuierliches Monitoring der Organfunktion. Die gesteigerte Löslichkeit von

⁴⁷ Jens Brockmann et al., "Normothermic Perfusion," *Annals of surgery* 250, no. 1 (2009), <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181a63c10>.

⁴⁸ A. S. Barbas et al., "Ex-vivo liver perfusion for organ preservation: Recent advances in the field," *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)* 30, no. 3 (2016).

⁴⁹ Ibid.

⁵⁰ Andrea Schlegel et al., "Protective mechanisms of end-ischemic cold machine perfusion in DCD liver grafts," *Journal of hepatology* 58, no. 2 (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.10.004>.

Sauerstoff in der umliegenden Flüssigkeit, im Vergleich zu 37°C, ermöglicht die Verwendung von Perfusaten ohne Sauerstoffträger⁵¹. Diese Methode wurde von Vairetti et al. entwickelt und zeigte eine bessere Aufbewahrungsmöglichkeit für steatotische Lebern im Vergleich zur kalten Lagerung hinsichtlich Enzymfreisetzung in das Perfusat, Galleproduktion, Glykogenspeicherung und oxidativem Stress. Darüber hinaus kam es zu einer Reduktion von sinusoidalem Zelltod durch Apoptose ohne die Verwendung von anti-apoptotischen Therapien⁵². Die Studie von Vairetti et al. zeigte erstmals, dass ischämisch beschädigte Lebern durch SNMP ohne Sauerstoffträger effektiv regeneriert werden können.

Während der MP werden die Gefäße konstant perfundiert, sodass es zu keinem Kollaps der Gefäße kommt. Darüber hinaus können Abfallprodukte aus dem geschlossenen System entfernt werden, sodass eine verbesserte Aufrechterhaltung der ATP-Levels erfolgt und es zu einer Verringerung des endothelialen Schadens und Zellschwellung kommt. Dies wiederum verbessert die Perfusion des Spenderorgans nach Reimplantation in Empfänger*innen. Während einer MP ist es auch möglich die Qualität des Organs zu ermitteln. Dies kann sowohl durch die Analyse der Druck- und Flussparameter als auch mit Hilfe von Biomarkerkonzentrationen im Perfusat erfolgen⁵³. Des Weiteren ist es über gesamten Zeitraum der Perfusion möglich, Sauerstoff und Nährstoffe zu verabreichen, sodass es bei der Reimplantation energieabhängige zelluläre Prozesse schneller wiederherzustellen.

Eine Verbesserung der Transplantatfunktion könnte vor allem bei grenzwertigen Lebern, wie zum Beispiel von adipösen Spender*innen, möglich sein. Da diese oft steatotische Veränderungen aufweisen, sind die Organe anfälliger auf Schädigung durch statische kalte Lagerung und damit würde eine normotherme beziehungsweise subnormotherme Umgebung Vorteile bieten⁵⁴.

⁵¹ A. S. Barbas et al., "Ex-vivo liver perfusion for organ preservation: Recent advances in the field," *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)* 30, no. 3 (2016).

⁵² Dilmurodjon Eshmuminov et al., "An integrated perfusion machine preserves injured human livers for 1 week," *Nature biotechnology* 38, no. 2 (2020), accessed September 2020.

⁵³ Ahmer M. Hameed, Wayne J. Hawthorne, and Henry C. Pleass, "Advances in organ preservation for transplantation," *ANZ journal of surgery* 87, no. 12 (2017).

⁵⁴ M. Vairetti et al., "Subnormothermic machine perfusion protects against rat liver preservation injury: a comparative evaluation with conventional cold storage," *Transplantation proceedings* 39, no. 6 (2007).

Zu den Nachteilen einer MP gehört die prolongierte Rezirkulation des Perfusats, welche weiteren Entzündungen auslösen könnte. Des Weiteren ist die MP nur eine Annäherung an die Umgebung im Körper und damit jetzigen Zeitpunkt nicht vergleichbar mit physiologischen Bedingungen⁵⁵. Kosten und Nutzen der MP müssen gegenübergestellt werden, um zu evaluieren, ob eine MP für das jeweilige Organ die bestmögliche Methode zur Überbrückung der Zeit zwischen Explantation und Implantation darstellt.

Die optimalen Bedingungen, die optimale Perfusionsflüssigkeit sowie die optimale Temperatur sind noch nicht definiert⁵⁶, daher werden Studien zur normothermen (37°C), subnormothermen (20-33°C) und hypothermen (4°C) Maschinenperfusionen fortgesetzt.

1.7 PERFUSIONSLÖSUNGEN

Tabelle 2 mit allen verwendeten Perfusionslösungen im klinischen Alltag⁵⁷:

Statische kalte Lagerung/ Perfusion	Einsatzbereiche
Histidin- Tryptophan- Ketoglutarat (HTK [®])- Lösung	<ul style="list-style-type: none"> - Lagerung von Lebern, Nieren, Pankreas und Lungen - in Situ Perfusion während Herztransplantation
University of Wisconsin (UW [®])- Lösung	<ul style="list-style-type: none"> - Perfusion und Konservierung von Organen in der Bauchhöhle (Niere, Leber, Pankreas)
Biolasol [®]	<ul style="list-style-type: none"> - Spülung und Lagerung von Organen (Herz, Leber, Pankreas, Niere) außerhalb des menschlichen Körpers unter hypothermischen Bedingungen
IGL-1 [®]	<ul style="list-style-type: none"> - Konservierung von Nieren, Lebern und Pankreas unter hypothermischen Konditionen (die Lösung ist eine minimale Veränderung des Biolasol zur Reduktion des Risikos für kardiovaskuläre Komplikationen)
Celsior [®]	<ul style="list-style-type: none"> - Lagerung der thorakalen- und abdominalen Organe (Herz, Lunge, Niere, Leber, Pankreas) unter hypothermischen Bedingungen

⁵⁵ Andrea Schlegel et al., "Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects from biliary injury in a rodent model of DCD liver transplantation," *Journal of hepatology* 59, no. 5 (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2013.06.022>.

⁵⁶ A. S. Barbas et al., "Ex-vivo liver perfusion for organ preservation: Recent advances in the field," *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)* 30, no. 3 (2016).

⁵⁷ Aneta Ostróżka-Cieślak, Barbara Dolińska, and Florian Ryszka, "Tips for optimizing organ preservation solutions," *Acta biochimica Polonica* 65, no. 1 (2018).

Perfadex [®]	- Lungentransplantationen unter hypothermischen Bedingungen
Polysol	- Lagerung und Perfusion unter hypothermischen Bedingungen
ET- Kyoto	- Ursprünglich für die Lagerung für Lungen - Mittlerweile nachgewiesen auch effektiv in der Erhaltung von Nieren, Lebern, Pankreas und Trachea
Plegisol [®]	- Kardiale Perfusion nach Beendigung der koronaren Zirkulation und Erhaltung des Organs bis zur Implantation

Die am häufigsten verwendeten Konservierungslösungen sind UW[®] (University of Wisconsin) und HTK[®] (Histidin- Tryptophan- Ketoglutarate). Der Studie von Guarrera et. al zufolge gibt es im klinischen Outcome keine nennenswerten Unterschiede zwischen den beiden Lösungen⁵⁸. Die wichtigsten Funktionen der Perfusionslösungen sind die Reduktion von Zellschwellungen und das Aufrechterhalten einer physiologischen intrazellulären Ionenkonzentration⁵⁹. Die Perfusionslösungen können, anhand ihrer Natriumkonzentrationen in intra- und extrazelluläre Lösungen unterteilt werden. Als intrazellulär werden Lösungen bezeichnet, die eine Natriumkonzentration unter 70 mEq/L haben, dagegen haben extrazelluläre Lösungen eine Natriumkonzentration über 70 mEq/L⁶⁰.

Die statische Konservierung in UW[®] wird seit 1987 weltweit am häufigsten verwendet und zeigt zufriedenstellende Kurz- und Langzeitresultate⁶¹. UW[®] wurde in den 1980er Jahren vom Team um Belzer und Southard erfunden und ist eine Flüssigkeit, die sowohl für die Perfusion als auch für die Lagerung von abdominalen Organen benutzt werden kann. Je nach Elektrolytkonzentration, gibt es eine Lösung für die Perfusion oder die Lagerung.

Die UW[®] Lagerungslösung wird zur ex-vivo Perfusion von Niere, Leber und Pankreas, verwendet und wird für eine erfolgreiche Lagerung, Transport und

⁵⁸ James V. Guarrera and Niaz A. Karim, "Liver preservation: is there anything new yet?," *Current Opinion in Organ Transplantation* 13, no. 2 (2008).

⁵⁹ Jens Brockmann et al., "Normothermic Perfusion," *Annals of surgery* 250, no. 1 (2009), <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181a63c10>.

⁶⁰ T. L. Demmy et al., "Organ preservation solutions in heart transplantation--patterns of usage and related survival," *Transplantation* 63, no. 2 (1997).

⁶¹ Xiaodong Yuan et al., "Machine perfusion or cold storage in organ transplantation: indication, mechanisms, and future perspectives," *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 23, no. 6 (2010).

eventuelle Reimplantation verwendet. Laut Hersteller wird die Lösung kurz nach der Entnahme des Organs aus dem Spender für die Nachperfusion eines isolierten Organs verwendet und bleibt dann während der statischen kalten Lagerung und dem Transport in den Gefäßen des Organs.

Die Maschinenperfusionslösung UW MPS® ist eine Lösung mit einer hohen Kalium- und niedrigen Natriumkonzentration. Die hohe Kaliumkonzentration soll dem Austritt von Kaliumionen aus der Zelle entgegenwirken, birgt aber das Risiko einer Vasokonstriktion. Die niedrige Natriumkonzentration verursacht die Akkumulation von Kalzium während der Ischämie-Zeit, was, während der Reperfusion, zu einer endothelialen Dysfunktion der Gallengänge führen kann^{62,63}. Kaliumlaktat und Raffinose sollen außerdem ein Zellschwellen verhindern und Glutathion die freien Sauerstoffradikale neutralisieren und die Integrität der Zellmembran unterstützen. Für die Stimulation der Resynthese von ATP wird Adenosin hinzugefügt, während Allopurinol, ein Xanthin Oxidase Inhibitor, einen protektiven Effekt gegen Ischämie bedingte Schäden haben soll⁶⁴. Für eine kontinuierliche MP ist nur die UW MPS® Lösung im Bereich der hypothermischen MP von Nieren geeignet, da diese die metabolischen Anforderungen laut Hersteller zwischen 2°C und 6°C erfüllen kann. Empfohlen wird eine mittlere Perfusionszeit von 29 Stunden (+/- 8 Stunden)⁶⁵

Tabelle 3 Bestandteile der UW® Maschinenperfusionslösung⁶⁶

Bestandteil	g/L	mmol/l
Adenin (freie Base)	0,68	5
Kalziumchlorid (Dihydrat)	0,068	0,5
Dextrose	1,80	10
Glutathion	0,92	3
HEPES (freie Säure)	2,38	10
Hydroxyethylstärke	50	
Magnesiumglukonat	1,13	5
Mannitol	5,4	30
Kaliumphosphat	3,4	25

⁶² Ágnes L. Szilágyi et al., "Compared efficacy of preservation solutions on the outcome of liver transplantation: Meta-analysis," *World journal of gastroenterology* 24, no. 16 (2018).

⁶³ "Physiologische Wirkprinzipien vasoaktiver Substanzen," *Anästhesiologie & Intensivmedizin* 2000, no. 41.

⁶⁴ Aneta Ostróžka-Ciešlik, Barbara Dolińska, and Florian Ryszka, "Tips for optimizing organ preservation solutions," *Acta biochimica Polonica* 65, no. 1 (2018).

⁶⁵ Bridge to Life, "Belzer MPS, Organkonservierungslösung (UW Machine Perfusion Solution) ,"

⁶⁶ Bridge to Life, "Belzer UW® - Cold Storage Solution: Directions for Preparation and Use,"

Ribose, D(-)	0,75	5
Natriumglukonat	17,45	80
Natriumhydroxid	0,70	

Auf der Grundlage ihres Natrium/Kalium- Verhältnisses (Natriumkonzentration: 100 mÄq/L, Kaliumkonzentration: 25 mEq/L) entspricht diese Lösung einer extrazellulären Lösung deren pH-Wert bei 20°C bei 7,4 liegt. UW[®] sollte bei 2°C bis 25°C gelagert werden, wobei die ideale Temperatur für eine MP bei 4-8°Grad liegt⁶⁷.

Die extrazellulär definierte HTK[®] Perfusionslösung (hohe Natriumkonzentration und niedrige Kaliumkonzentration) wurde primär für die offene Herzchirurgie entwickelt und ist eine kardioplegische Flüssigkeit, die speziell für eine Begrenzung der Kalziumkonzentration konzipiert wurde⁶⁸. Später wurde diese auch für die Aufbewahrung von Lebern, Nieren, Pankreas und Lungen freigegeben und hat drei große Komponenten, wonach diese Flüssigkeit auch benannt ist: Histidin, Tryptophan und α - Ketoglutarat (HTK). Histidin und Tryptophan stabilisieren Zellmembranen und neutralisieren Sauerstoffradikale, während α - Ketoglutarat das Substrat für den anaeroben Metabolismus während der Lagerung ist. Durch ihre geringe Viskosität kann die Lösung einfach in die Mikrozirkulation des Gewebes eindringen und für in Situ-Perfusionen genutzt werden⁶⁹.

Primär bewirkt HTK[®] die Inaktivierung des Lebergewebes durch die Elektrolytzusammensetzung. Das Membranpotential der Zellen wird mit der Senkung der Natrium- und Kalziumkonzentration im Zytoplasma stabilisiert und verhindert den zellaktivierenden intrazellulären Natrium- und Kalziumstrom⁷⁰.

Tabelle 4: Zusammensetzung von HTK[®]⁷¹

Bestandteil	g/L	mmol/L
Natriumchlorid (NaCl)	0,8766	15,0
Kaliumchlorid (KCL)	0,6710	9,0

⁶⁷ Bridge to Life, "Belzer MPS, Organkonservierungslösung (UW Machine Perfusion Solution) ,"

⁶⁸ Ágnes L. Szilágyi et al., "Compared efficacy of preservation solutions on the outcome of liver transplantation: Meta-analysis," *World journal of gastroenterology* 24, no. 16 (2018).

⁶⁹ Aneta Ostróžka-Ciešlik, Barbara Dolińska, and Florian Ryszka, "Tips for optimizing organ preservation solutions," *Acta biochimica Polonica* 65, no. 1 (2018).

⁷⁰ Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen, "Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels: Custodiol- Perfusionslösung," 1994, https://asprejister.basg.gv.at/asprejister/faces/asprejister.jspx?_afLoop=1710528580510105&_afWindowMode=0&_adf.ctrl-state=b6tc6ht64_4.

⁷¹ Ibid.

Magnesiumchlorid (MgCl ₂) x 6 H ₂ O	0,8132	4,0
L-Histidinhydrochlorid x H ₂ O	3,7733	18,0
L-Histidin (C ₆ H ₉ N ₃ O ₂)	27,9289	180,0
Tryptophan (C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂)	0,4085	2,0
Mannitol (C ₆ H ₁₄ O ₆)	5,4651	30,0
2-Oxoglutarsäure (C ₅ H ₆ O ₅)	0,1460	1,0
Calciumchlorid (CaCl ₂) x 2 H ₂ O	0,0022	0,015

HTK[®] ist eine klare, farblose bis schwach gelbe Lösung mit einem pH-Wert von 7,02-7,20 bei 25°C⁷².

⁷² Ibid.

1.8 BEURTEILUNG DER LEBERGEWEBSQUALITÄT

Die Beurteilung der Qualität des Lebergewebes teilt sich auf in Parameter, die vor Perfusionsstart evaluiert werden können und Parameter, die während Perfusion gemessen werden können.

1.8.1 Einflüsse auf die Leber vor Perfusionsstart

In dieser Studie wird die Verfassung des Lebergewebes vor Perfusionsstart durch eine, an den Spender*innen durchgeführte, Abdomensonographie beurteilt, die aus den ET Berichten herausgearbeitet wird. Mit Hilfe der Abdomensonographie wurden in den letzten zehn Jahren Leberfibrosen sichtbar gemacht und gewinnt als nichtinvasive Methode immer mehr an Bedeutung. Vor allem können Lebersteatosen, Leberfibrosen und eventuelle Läsionen aufgezeigt werden⁷³. Durch verschiedene Modi können Größe, Kontur und Echogenität der Leber beurteilt werden. Außerdem sind das hepatische Gefäßsystem, die Gallengänge und angrenzende Lymphknoten bei der Darstellung und Beurteilung eines gesunden Lebergewebes von Bedeutung⁷⁴.

Die Studie von Liang Zhu et al.⁷⁵ zeigt, dass Lebergewebe nach zwölf Stunden statischen kalten Lagerung erhebliche Schäden, in Form von zytoplasmatischen Ödemen (lockeres Leberzellarrangement und Schwellung der Mitochondrien) aufweist. Die Studie von David Nasralla et al.⁷⁶ wiederum verglich die statische kalte Lagerung mit normothermer MP bei 220 Lebern und kam zu dem Ergebnis, dass die Wahrscheinlichkeit einer Transplantatschädigung bei statischer kalter Lagerung um 50% höher ist als nach einer normothermen MP. Außerdem war die Ablehnungsrate von Organen, die statisch kalt gelagert waren, höher als nach normothermer MP. Dies zeigt, dass während der statischen kalten Lagerung eine Verschlechterung der Leberqualität stattfindet, und die Dauer der statischen kalten

⁷³ Annalisa Berzigotti et al., "Novel ultrasound-based methods to assess liver disease: The game has just begun," *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 50, no. 2 (2018).

⁷⁴ Sally Griffin, "Feline abdominal ultrasonography: what's normal? what's abnormal? The liver," *Journal of feline medicine and surgery* 21, no. 1 (2019).

⁷⁵ Liang Zhu et al., "Changes to Liver Structure and Energy Metabolism During Cold Storage of Transplanted Liver in Mice," *Experimental and clinical transplantation : official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation* 18, no. 1 (2020).

⁷⁶ David Nasralla et al., "A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation," *Nature* 557, no. 7703 (2018).

Lagerung in Beurteilung der Leberqualität vor dem Start der MP miteinbezogen werden muss.

Ebenso muss zur Beurteilung Organqualität der Ablehnungsgrund mit in Betracht gezogen werden, da es den Zustand während Entnahme des Organs aus dem Spender beschreibt. Für diese Studie sind besonders der Zirrhose- und Steatosegrad des Lebergewebes von Bedeutung, da schon für eine Steatose im klinischen Setting Behandlungsbedarf besteht, um eine eventuelle Verschlechterung hin zur Leberzirrhose zu vermeiden⁷⁷.

1.8.2 Perfusatparameter

Zur Beurteilung der Leberqualität werden während der Perfusion der pH-Wert, pO₂ und pCO₂, sowie Elektrolyt-, Laktat-, und Glukoselevels herangezogen und die Galleproduktion aufgezeichnet.

1.8.2.1 Säure- Basenhaushalt

Im menschlichen Blut liegt der pH-Wert zwischen 7,36 und 7,44, der pCO₂ bei 35-45 mmHg und das Standardbikarbonat bei 22-26 mval/l⁷⁸. Um den pH-Wert im Blut konstant halten zu können, gibt es verschiedene körpereigene Puffer, sogenannte aktive Regulationssysteme. Zu den offenen Puffersystemen gehören der Bikarbonat- und das Ammonium- Ionen Puffersystem. Diese beiden Systeme können Reaktionspartner aus dem System entfernen beispielweise über die Lunge oder über die Niere. Der Bikarbonatpuffer ist das wichtigste Puffersystem, da es etwa 50% der Gesamtpufferkapazität im Blut stellt. Wenn die Konzentration der Base Bikarbonat steigt, so steigt auch der pH-Wert, während wenn die Konzentration der schwach wirkenden Säure CO₂ steigt, dann sinkt der pH-Wert. Zu den geschlossenen Puffersystemen gehören das Protein- und das Phosphatpuffersystem. Hier bleibt der Gehalt der korrespondierenden Säure-Basen- Paare konstant und kein Reaktionspartner verlässt das System⁷⁹.

⁷⁷ Kazuto Tajiri and Yukihiro Shimizu, "Liver physiology and liver diseases in the elderly," *World journal of gastroenterology* 19, no. 46 (2013).

⁷⁸ Jochen Am Schulte Esch and Hanswerner Bause, *Anästhesie: Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie ; 232 Tabellen*, 4th ed. (Stuttgart: Thieme, 2011), <http://ebooks.thieme.de/9783131190840/1>.

⁷⁹ Robert F. Schmidt, Florian Lang, and Manfred Heckmann, eds., *Physiologie des Menschen: Mit Pathophysiologie ; mit Online-Repetitorium*, 31st ed. (Berlin: Springer, 2017). <http://www.springer.com/>.

Der Basenüberschuss (Normbereich: -2,0 bis +2,0 mval/l) zeigt die Abweichungen der Pufferbasen vom Normalwert 0 an. Diese Parameter werden zur Beurteilung des Säure-Basen Haushalts verwendet. Die Puffersysteme, vor allem der Bikarbonatpuffer, sorgen dafür, dass die H⁺-Ionenkonzentration der Körperflüssigkeiten konstant bleiben und damit biochemische Prozesse zur Aufrechterhaltung der Homöostase ablaufen können. Der pH-Wert zeigt die aktuelle Konzentration an H⁺-Ionen an. Bei dem Wert 7 sind die H⁺-Ionen und die OH⁻ Ionen im Gleichgewicht und bei einer Veränderung der Konzentrationen steigt beziehungsweise sinkt der pH-Wert⁸⁰.

Durch die Isolation von Lebergewebe außerhalb des Körpers, kann die Regulierung des Säurebasenhaushalts nicht mehr von Lunge und Niere⁸¹ gewährleistet werden und damit ist das Lebergewebe abhängig von der äußeren Beurteilung der durchführenden Perfusionist*innen. Je weniger stabil der pH- Wert ist, desto wahrscheinlicher ist ein Funktionsverlust sowie eine Denaturierung von Proteinen und in weiterer Folge kann es zu einer Qualitätsminderung des Gewebes kommen.

1.8.2.2 Sauerstoffbedarf

In dieser Studie, unter subnormothermen Bedingungen, sind keine Sauerstoffträger wie zum Beispiel Erythrozyten nötig. Der Sauerstoff wird im Perfusat gelöst und so vom Lebergewebe aufgenommen⁸². Der Sauerstoffbedarf des Gewebes wird wesentlich durch die Umgebungstemperatur während der MP beeinflusst. Durch die, im Vergleich zu einer statisch kalten Lagerung, höhere Temperatur, soll es zu einer Aufrechterhaltung der metabolischen Aktivität und Aufrechterhaltung der ATP-Levels kommen. Bei der MP beeinflussen nicht nur Temperatur, sondern auch Oxygenatoren, Sauerstofftransporter und Flussrate, die Sauerstoffbereitstellung.⁸³

⁸⁰ Walter Siegenthaler, ed., *Klinische Pathophysiologie: 213 Tabellen*, 8th ed. (Stuttgart, New York: Thieme, 2001).

⁸¹ amboss, "Säure-Basen- Haushalt: Regulation des Säure-Basen-Haushalts in den Organen," 2020, <https://next.amboss.com/de/article/lo0YWS?q=S%C3%A4ure%20basen%20haushalt#Z49684269b5f142564183f0d57b95ec4c>.

⁸² Robert F. Schmidt, Florian Lang, and Manfred Heckmann, eds., *Physiologie des Menschen: Mit Pathophysiologie : mit Online-Repetitorium*, 31st ed. (Berlin: Springer, 2017). <http://www.springer.com/>.

⁸³ Kozue Yoshida et al., "Normothermic machine perfusion system satisfying oxygen demand of liver could maintain liver function more than subnormothermic machine perfusion," *Journal of bioscience and bioengineering* 131, no. 1 (2021).

Wird der Leber, während der MP kein Sauerstoff zur Verfügung gestellt, findet anaerober Metabolismus statt. Dies führt dazu, dass nicht mehr genug Energie in Form von ATP zur Verfügung steht und es zu einer Abnahme der metabolischen Rate kommt. Im Zuge des anaeroben Metabolismus entsteht eine Laktatazidose, welche das Gewebe über längere Zeit beeinträchtigen kann.⁸⁴

1.8.2.3 Elektrolyte

Jede Zelle ist von einem ausgewogenen Elektrolytverhältnis abhängig. Natrium ist für den Volumenbestand im extrazellulären Raum, für die Entstehung von Aktionspotentialen und als Triebkraft für sekundär aktive Prozesse verantwortlich. Der Normwert im Serum liegt bei 135- 145 mmol/L⁸⁵. Pathologische Natriumkonzentrationen können durch eine Konzentrierung oder Verdünnung von Flüssigkeiten zum Beispiel Blut oder Perfusat entstehen, welche eine Veränderung des Wasserhaushalts hervorrufen. Natrium ist ein indirektes Maß der Osmolarität und Änderungen der intrazellulären und extrazellulären Natriumkonzentrationen bestimmen den osmotischen Gradienten. Durch eine Erhöhung der Natriumkonzentration im Perfusat kommt es zu einer Flüssigkeitsverschiebung von intra- nach extrazellulär was zur Schrumpfung der Zellen führt. Ist im Perfusat zu wenig Na⁺ vorhanden, kommt es zu einer Flüssigkeitsverschiebung von extra- nach intrazellulär und zu einer Schwellung der Zellen⁸⁶.

Das Hauptkation des intrazellulären Raums ist das Kalium und dessen Konzentrationsdifferenz zwischen dem intra- und extrazellulären Raum beeinflusst die elektrische Erregbarkeit von Zellen. Des Weiteren ist Kalium auch an der Regulation des pH-Wertes beteiligt. Die ungefähre Serumkonzentration liegt im menschlichen Körper bei 3,6-5,2 mmol/L. Die Ursache für eine Hypokaliämie kann unter anderem ein veränderter intrazellulärer Transport sein⁸⁷.

Kalzium ist unter anderem für die Funktion von Muskel- und Nervenzellen, die Blutgerinnung und die Aktivierung einiger Enzyme wichtig. Der Normwert für Kalzium im Serum beträgt 2,20-2,65 mmol/L. Im Plasma ist 45% des Kalziums an

⁸⁴ P. M. Mertes et al., "Changes in hemodynamic and metabolic parameters following induced brain death in the pig," *Transplantation* 58, no. 4 (1994).

⁸⁵ Sam McCarter, *Medicine* (Oxford: Oxford University Press, 2010-).

⁸⁶ Monika Flasnöcker, ed., *Thiemes innere Medizin: TIM ; 848 Tabellen* (Stuttgart, New York: Thieme, 1999).

⁸⁷ Thomas E. Andreoli and Russell L. Cecil, *Andreoli and Carpenter's Cecil essentials of medicine*, 8th ed. (Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2010).

Proteine gebunden, vorwiegend an Albumin, 5% an Anionen und 50% liegen als freies ionisiertes Kalzium vor⁸⁸. Im menschlichen Körper stabilisiert Kalzium das Ruhemembranpotential und beeinflusst den pH-Wert⁸⁹.

Chlorid ist ein Anion und der Gegenspieler des Natriums. Das Chlorid spielt eine essenzielle Rolle bei der Verdauung, bei der Muskelaktivität und dem Säure Basen Haushalt. Eine erhöhte Chloridkonzentration führt zu einem Abfall von Bikarbonat und damit zu einer metabolischen Azidose, während zu wenig Chlorid zu einem Anstieg von Bikarbonat führt und eine metabolische Alkalose zur Folge hat⁹⁰.

1.8.2.4 Kohlenhydratstoffwechsel

Wie bereits ausgeführt, entsteht durch eine Gewebehypoxie ein Anstieg des Laktatlevels, da ATP in diesem Fall über die anaerobe Glykolyse gebildet wird und nicht wie unter physiologischen Bedingungen über die aerobe Glykolyse⁹¹. Im Rahmen der Gluconeogenese kann die Leber das Laktat wieder verstoffwechseln, sodass die Laktatkonzentration ein Indikator für die Vitalität des Gewebes darstellt. Es stellen sich die Fragen, ob der zugeführte Sauerstoff von den Zellen verwendet werden kann und eine aerobe Glykolyse ablaufen kann oder es nach der statischen kalten Lagerung bei einer anaeroben Glykolyse bleibt. Eine weitere Frage ist, ob Prozesse wie zum Beispiel die Gluconeogenese, in den Hepatozyten noch stattfinden können⁹².

Die Leber nimmt im Kohlenhydratstoffwechsel eine wichtige Rolle ein, da die Leberzellen Kohlenhydrate speichern aber auch wieder an das Blut abgeben können. Kohlenhydrate (Glukose, Galaktose, Fruktose) werden in der Leber als Glykogen gespeichert. Ist der Speicher mit 300-400 Gramm gesättigt, kann eine Umwandlung in Fette erfolgen. Wird wieder Glukose benötigt, im Falle eines Absinkens des Glukosespiegels oder bei erhöhtem Bedarf, kann Glykogen im Zuge der Glykogenolyse in Glukose umgewandelt werden oder im Zuge der Gluconeogenese Glukose neu synthetisiert werden. Bei Erkrankungen der Leber

⁸⁸ Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

⁸⁹ Walter Siegenthaler, ed., *Klinische Pathophysiologie: 213 Tabellen*, 8th ed. (Stuttgart, New York: Thieme, 2001).

⁹⁰ Andrea A. Bohn and Helio A. de Morais, "A Quick Reference on Chloride," *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 47, no. 2 (2017).

⁹¹ Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

⁹² Reinhard Walther and Pschyrembel Redaktion, "Gluconeogenese: Grundlagenfächer der Medizin," *Pschyrembel online* (04.2020).

wie zum Beispiel des hepatogenen Diabetes Mellitus bei Leberzirrhose kann es zu einer Glukosetoleranz kommen. Ebenso kann durch zu hohe Glukosebereitstellung eine Fettleber entstehen⁹³. In dieser Studie ist der Glukoselevel von Bedeutung, da man die optimale Umgebung für das Lebergewebe bereitstellen sollte. Glykolyse, Glykogensynthese und Glykogenolyse kann nur durch die Bereitstellung von Kohlenhydraten gewährleistet werden. Im menschlichen Organismus liegt die optimale Glukosekonzentration zwischen 80 und 120 mg/dl.⁹⁴

1.8.2.5 Galle

Galle wird in den Hepatozyten gebildet⁹⁵ und setzt sich aus 80% Wasser, 10-15% Gallensäure, Lecithin 5%, Cholesterin circa 1% und Abbauprodukte der Leber insbesondere Bilirubin circa 1% zusammen. Die Galle wird von den Hepatozyten direkt in die apikal gelegenen Kanalikuli biliferi abgegeben. In den Gallengangepithelzellen wird die Galle, durch die Absonderung von osmotisch wirksamen Substanzen und dem daraus resultierenden passiven Einstrom von Wasser, modifiziert⁹⁶. Die Galleproduktion bzw –zusammensetzung ist also ein Maß für die Funktionalität der Hepatozyten bzw Gallengangsepithelzellen.

Eine gesunde Leber produziert täglich circa 700ml Galle. Die Gallenproduktion dient der Förderung der Fettverdauung, der Aufnahme fettlöslicher Vitamine und der Ausscheidung verschiedener Substanzen wie Bilirubin oder Medikamente⁹⁷.

Der pH-Wert der Galle über 7,4 zeigt eine adäquate Bikarbonatsekretion in die Galle und kann einer ITBL (Ischemic Type Biliary Lesion) Entwicklung vorbeugen, welches eine der häufigsten Gallengangskomplikation nach einer Lebertransplantation darstellt.⁹⁸

⁹³ Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

⁹⁴ Jochen Am Schulte Esch and Hanswerner Bause, *Anästhesie: Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie ; 232 Tabellen*, 4th ed. (Stuttgart: Thieme, 2011), <http://ebooks.thieme.de/9783131190840/1>.

⁹⁵ Alfred Benninghoff et al., eds., *Taschenbuch Anatomie* (München: Elsevier Urban & Fischer, 2011).

⁹⁶ Jochen Fanghänel, Franz Pera, and Friedrich Anderhuber, *Waldeyer: Anatomie des Menschen*, 17th ed. (s.l.: Walter de Gruyter GmbH Co.KG, 2009).

⁹⁷ Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

⁹⁸ Andrea Schlegel et al., "Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects from biliary injury in a rodent model of DCD liver transplantation," *Journal of hepatology* 59, no. 5 (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2013.06.022>.

1.9 ZIELSETZUNG DIESER ARBEIT

Das primäre Ziel dieser Arbeit ist aufzuzeigen, dass eine SNMP über einen Zeitraum von 24 Stunden möglich ist. Um die Organqualität über den gesamten Zeitraum Monitoren zu können werden die „State of the Art“ -Leberparameter herangezogen. Aus diesen Parametern, in Kombination mit Spenderspezifischen Informationen, wird versucht erste Schlüsse zur Bewertung der Organqualität zu ziehen und in weiterer Folge eine Einschätzung des Perfusionserfolges vorzunehmen.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 STUDIENDESIGN

In diese explorative, translationale Studie werden ausschließlich nicht-allozierbare Lebern, von Spender*innen, die von allen Zentren für eine Implantation abgelehnt wurden eingeschlossen. Es werden Spender*innen zwischen 18 und 100 Jahren eingeschlossen, ansonsten gibt es keine Ein- oder Ausschlusskriterien. Die Organentnahmen für die Studie erfolgen ausschließlich im Rahmen von ET kontrollierten Multiorganentnahmen. Es werden keine Eingriffe rein zur Entnahme von Studienorganen durchgeführt. Außerdem wird im Rahmen der Studie sichergestellt, dass keinerlei Nachteile für potenzielle Empfänger*innen entstehen. Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt (30-493 ex17/18) und wird streng nach den Richtlinien zu „Gewinnung von Gewebeproben zu wissenschaftlichen Zwecken bei hirntoten Organspendern – Merkblatt“ durchgeführt.

2.2 VERHALTEN DER LEBER VON EXPLANTATION BIS ZUM ENDE DER MP

Spender*innenbezogenen Daten für die Beurteilung: Alter, Body Mass Index (BMI) und eventuell vorhandene Vorerkrankungen. Die Qualität des Spenderorgans soll über die Dauer der kalten Ischämiezeit zwischen Explantation und Perfusionsstart, Bildgebung (Computertomographie und Sonographie) und Ablehnungsgrund zur Implantation charakterisiert werden (Abbildung 2).

Während der MP werden Parameter wie pH, Laktat, Basenüberschuss und Glukose direkt on-site bestimmt und dokumentiert. Die Levels der Leberenzyme (ALT, AST, GGT, Bilirubin, LDH, Albumin) aus dem Perfusat werden im Anschluss an die Perfusat im Routinelabor bestimmt. Außerdem werden perfusionsspezifische Parameter (Druck- und Flusswerte) aufgezeichnet und ausgewertet. Für die Beurteilung des Perfusionserfolges werden die Mittelwerte der Daten nach 1, 6, 7 und 24h Perfusion herangezogen.

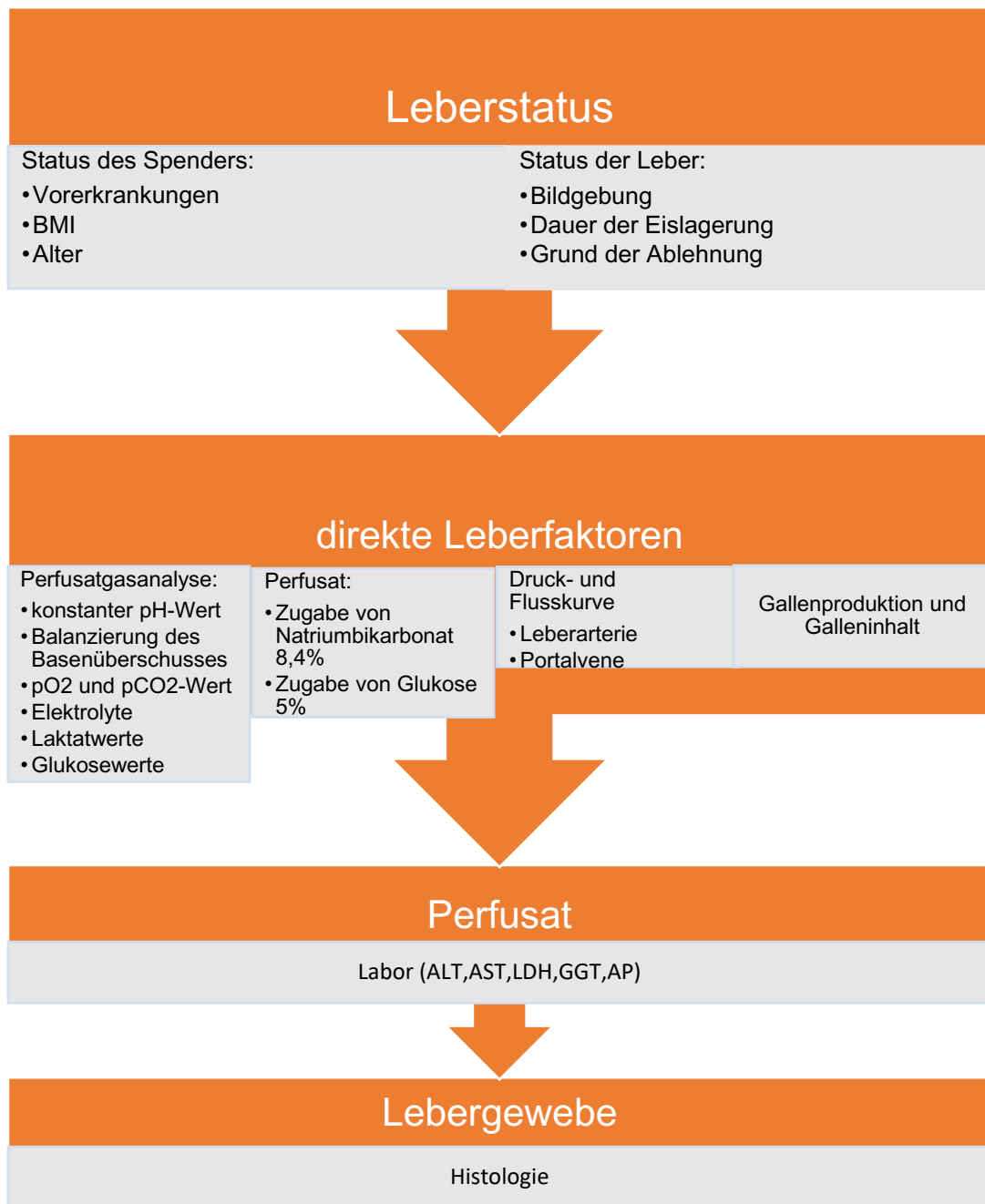


Abbildung 2: Beurteilungsschema der Leberqualität

2.2.1 Einschätzung der Leber vor Perfusionsbeginn in Hinblick auf den Spender und die Leber

Die Leberqualität vor Perfusionsbeginn wird durch die Kategorien: Status der Spender*innen kurz vor Entnahme des Organs und Status des Lebergewebes beschrieben und evaluiert. Diese Informationen werden aus den standardisierten ET Berichten extrahiert.

In Tabelle 5 werden die verschiedenen Einflüsse auf das Lebergewebe aufgezeigt.

Einschränkung des Lebergewebes	partielle Einschränkungen des Lebergewebes	keine Einschränkung des Lebergewebes
<ul style="list-style-type: none"> • Diabetes Mellitus Typ 2 • Arterieller Hypertonus • Rauchen • Herzerkrankungen • Gefäßerkrankungen • Alkoholkonsum • Vorgeschichte oder aktuelle Vorhandensein einer Lebererkrankung • BMI über 30 kg/m² • Alter über 65 Jahren 	<ul style="list-style-type: none"> • Vorgeschichte oder dem Vorhandensein eines tumorösen Geschehens 	<ul style="list-style-type: none"> • Body-Mass Index unter 30 kg/m² • Alter unter 65 Jahren

Tabelle 5 Einschätzung des Spenderkörpers zur Beurteilung der Qualität der Leber

Im Hinblick auf die Organqualität muss die Gewebequalität ebenso berücksichtigt werden wie der Status der Spender*innen. Die Ablehnungsgründe können in Steatose, Fibrose und Malignität kategorisiert werden. Details sind in Tabelle 6 aufgelistet.

Einschränkung des Lebergewebes	keine Einschränkung des Lebergewebes
<ul style="list-style-type: none"> • in der Bildgebung mit Zirrhose, Fibrose und vergrößertes Volumen auffällig • kalte Eislagerung über 12 Stunden • Ablehnungsgründe: Steatose, Fibrose, Malignität 	<ul style="list-style-type: none"> • in der Bildgebung unauffällig • kalte Eislagerung unter 12 Stunden • Ablehnungsgründe: erhöhtes Alter, längere Ischämiezeit

Tabelle 6 Einschätzung der isolierten Leber zur Beurteilung der Qualität der Leber vor Perfusionsstart

2.2.2 Einschätzung des Verhaltens der Leber während Perfusion

Für die Abschätzung der Qualität der MP wird im Rahmen dieser Studie der Säurebasenhaushalt sowie die Perfusatgase über 24 Stunden beobachtet. Der pH-Wert, der partielle Sauerstoffdruck und der partielle Kohlenstoffdioxiddruck spielen eine wichtige Rolle im Säure Basen Haushalt des Perfusats und im Gasaustausch zwischen Perfusat und Lebergewebe⁹⁹. pH-Wert, Elektrolyte, Laktat und Glukose

⁹⁹ W. Boemke, M. O. Krebs, and R. Rossaint, "Blutgasanalyse," *Der Anaesthetist* 53, no. 5 (2004).

werden über 24 Stunden protokolliert und deuten auf Veränderungen im Lebergewebe hin.

Des Weiteren kann die Funktionsfähigkeit des Lebergewebes durch die Galleproduktion eingeschätzt werden (das produzierte Volumen wird mitprotokollieren). Der pH-Wert, Glukose- und Laktatlevel in der Galle, werden mit dem pH-Wert, Glukose- und Laktatlevels in den korrespondieren Perfusatsampels verglichen.

Die Parameter, die vor und während der Perfusion erhoben werden, sollten mit der jeweiligen Perfusionslösung in den Kontext gebracht werden, da es entscheidende Faktoren sind, die die Werte beeinflussen können. Die Leberenzymparameter, gemessen an Stunde 1,6,7 und 24 werden eingeteilt in die verschiedenen Perfusate und dann der Mittelwert berechnet und aufgezeigt.

2.3 NACHWEIS DER LEBERENZYME IM PERFUSAT

Aus mehreren anonymisierten Restproben der Laborroutine am klinischen Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik Graz wurde ein Blutplasmapool gebildet. Die Konzentrationen von ALT, AST, GGT und LDH wurden als Mittelwerte einer 5-maligen seriellen Messung für jeden Marker sowohl im Plasmapool als auch in der reinen Perfusionslösung bestimmt. Dann wurde die reine Perfusionslösung mit dem Blutplasmapool zu unterschiedlichen Anteilen (10+0, 9+1, 8+2, 7+3 usw.) gemischt und jeder Marker wurde für jedes Mischungsverhältnis bestimmt. Wir haben die prozentuale Wiederfindung als Verhältnis des gemessenen zum erwarteten Ergebnis berechnet und ein Wert zwischen 85 und 115 % wurde als akzeptabel angesehen. Die besten Wiederfindungsraten wurden für ALT (91–112 %), AST (90–106 %) und LDH (94–101 %) beobachtet. Bei GGT (69–103 %) war die Wiederfindung bei geringerer Konzentration schlechter. Die lineare Regressionsanalyse ergab eine überwiegend negative konstante Abweichung für diesen Marker. Da wir nur Längsschnittanalysen durchgeführt haben, haben wir diesen Marker nicht aus der Studie ausgeschlossen, da eine konstante Verzerrung die Interpretation der Dynamik im Laufe der Zeit nicht trübt.

2.4 BACKTABLE PRÄPARATION

Benötigt werden: eine sterile Schüssel mit kalter Lagerungslösung, eine Organwaage, drei Kanülen jeweils für die Leberarterien (8F, 10F, 12F oder 25F), die Portalvene (25F gebogen) und den Gallengang (6F oder weniger), eine Spritze zur Lösungsabnahme nach Backtable- Perfusion, Behälter zur Lagerung von Leber- und Gefäßgewebe, zwei Liter Perfusionslösung, chirurgische Instrumente und Nahtmaterial.

Die Leber wird zusammen mit der restlichen Lagerungslösung in die Schüssel gegeben und gewogen. Danach werden die anatomischen Gegebenheiten untersucht, jeweils von Leberarterie, Portalvene, Gallengang und Lebergewebe jeweils FFPE und Cryo Proben genommen und entsprechend versorgt. Nun kann das Organ kannüliert werden (Siehe Abbildung 3).

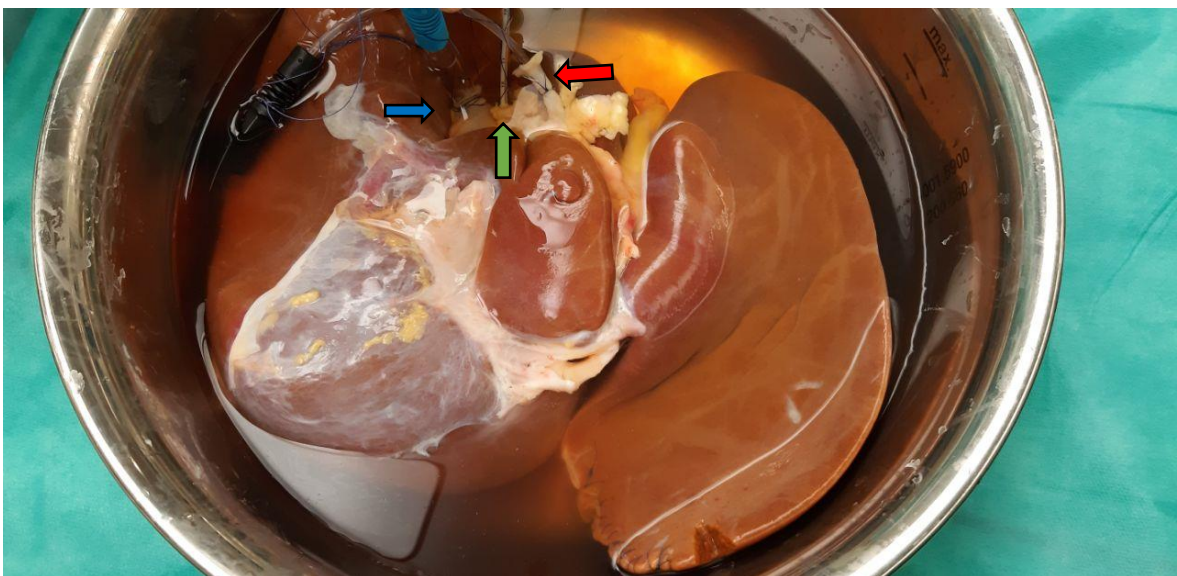


Abbildung 3: Kannülierte Leber

Legende: blauer Pfeil: Portalvene, grüner Pfeil: Gallengang, roter Pfeil: Leberarterie

Sind die Kanülen eingesetzt, wird die Portalvene mit zwei Liter 4°C der jeweiligen Perfusionslösung perfundiert, um die Blutreste auszuschwemmen und Proben aus der während der kalten Lagerzeit im Organ verbliebenen Lösung zu nehmen. Nun ist das Organ bereit für die MP.

2.5 MP

Im Rahmen dieser Studie wird das Liver Assist[®] der Firma Organ Assist (Groningen, Niederlande) verwendet. Dieses Perfusionssystem ermöglicht Perfusionstemperaturen zwischen 12°C und 37°C. Zwei separate, druckkontrollierte Pumpen erzeugen arteriell pulsatile und venös kontinuierliche Perfusion und sorgt damit für annähernd körperähnliche Bedingungen. Der schematische Aufbau der Maschine wird in Abbildung 3 dargestellt.

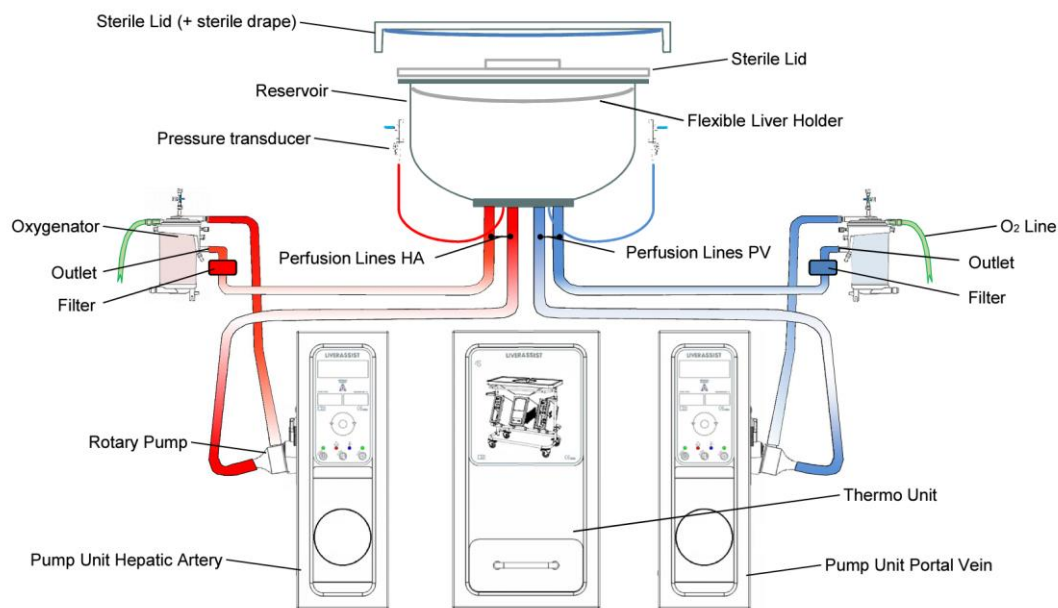


Abbildung 4 Schematischer Aufbau des Liver Assist[®] Perfusionssystems¹⁰⁰

Für die 24-stündige SNMP bei 21°C wird das System mit 4L der jeweiligen Perfusionslösung befüllt und endlüftet. Die Zugabe von Penicillin/ Streptomycin 40kU/L / 0,04 mg/L und Amphotericin B 1mg/L gewährleistet die Sterilität des Systems während der Perfusion.

Das Gewicht des Organs, das während der Back-table Prozedur ermittelt wurde wird in weiterer Folge für die Berechnung der Zielparameter verwendet¹⁰¹. Je geringer der Widerstand, desto flexibler ist die Gefäßwand und leichter die Möglichkeit, Flüssigkeit zu dem Lebergewebe zu transportieren. Allerdings ist der Widerstand abhängig von den verwendeten Kanülen und der eingestellten

¹⁰⁰ Organ Assist, *LIVER ASSIST- oxygenated perfusion of isolated donor liver; pressure controlled dual perfusion of hepatic artery and portal vein*, organ-assist.nl.

¹⁰¹ Bote G. Bruinsma et al., "Functional human liver preservation and recovery by means of subnormothermic machine perfusion," *Journal of visualized experiments : JoVE*, no. 98 (2015).

Temperatur. Wichtig wird diese Berechnung vor allem bei der Leberarterie, da die Mediaschicht viel muskelreicher ist als bei der Portalvene, durch die höheren Drücke die im Körper auf das Gefäß einwirken. Durch die höheren Drücke auf das Gefäß, wird die Gefäßwand robuster, aber auch schneller defekt, sodass unter anderem an dem Zustand und Widerstand der Leberarterie die Qualität des Lebergewebes abgelesen werden kann¹⁰².

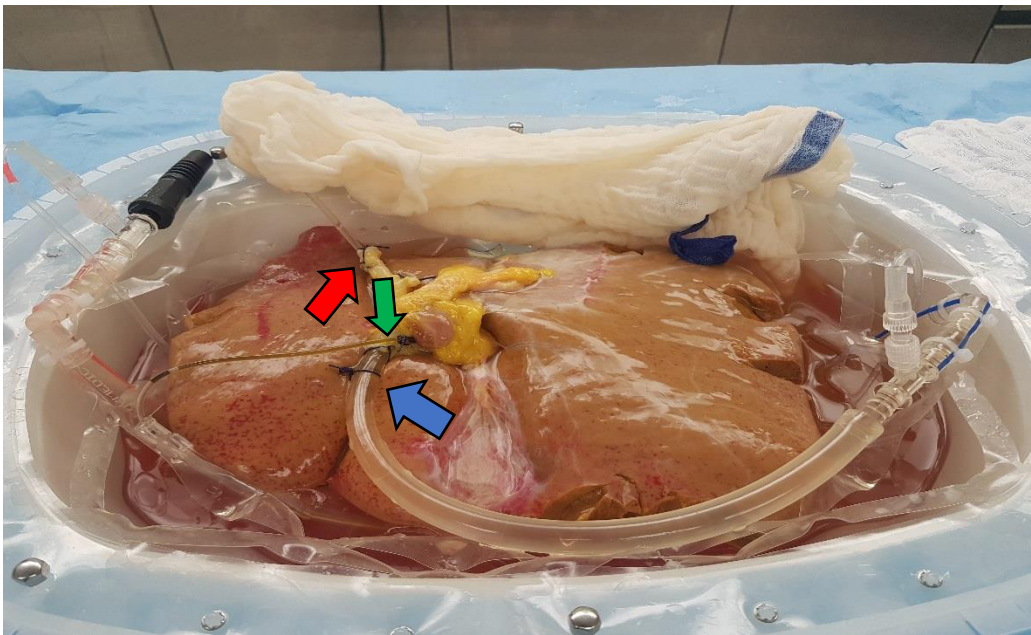


Abbildung 5: Leber im Liver Assist[®]

Legende: Während der Perfusion. roter Pfeil: Leberarterie, grüner Pfeil: Gallengang, blauer Pfeil: Portalvene

Um die Perfusatgase, Glukose und Laktatlevels im Perfusat on-site messen zu können wir das ePOC[®]- Blutgasanalyzesystem in Kombination mit den BGEM-Testkarten verwendet.

Um ein möglichst einheitliches Vorgehen bei jeder Perfusion durchführen zu können wird jedes Organ mit einem standardisierten Protokoll in den Liver Assist[®] eingespannt.

Das Liver Assist[®] Gerät vorbereitet und das Organ kanüliert werden. Diese Prozedur findet unter aseptischen Bedingungen statt. Danach wird das Organ an

¹⁰² Renate Lüllmann-Rauch, *Taschenlehrbuch Histologie*, 2nd ed. (Stuttgart: Thieme, 2006), http://bvbr.bib-bvb.de:8991/F?func=service&doc_library=BVB01&doc_number=014949304&line_number=0002&func_code=DB_RECORDS&service_type=MEDIA.

den Liver Assist[®] angeschlossen (Abbildung 5) und die Perfusion wird gestartet. Dabei werden mögliche Lufteinschlüsse vermieden und die adäquaten Drücke für die Portalvene und die Leberarterie des jeweiligen Organs, angepasst, damit die gewünschten Flüsse erreicht werden. Die Temperatur wird auf 21 Grad eingestellt. Nach fünfzehn Minuten sollte der Fluss bei der Portalvene zwischen 275-325 ml/min*kg und bei der Leberarterie zwischen 50-100 ml/min*kg liegen¹⁰³. Zusätzlich erfolgt die Sauerstoffversorgung in Form von Oxymix[®] (95% O₂, 5% CO₂) mit einer Flussrate von 1 Liter pro Minute.

Während der Perfusion werden innerhalb der ersten Stunde viertelstündlich die Blutgase und der pH-Wert mithilfe des ePOC[®]-Geräts ermittelt, und ggf eingestellt.¹⁰⁴ Der pH-Wert wird mit der Zugabe von 8,4% Natrium-Bikarbonat eingestellt. Auch die Glukose- Werte werden engmaschig kontrolliert und gegebenenfalls angepasst. Lebergewebsproben und Perfusatproben werden stündlich genommen und für weitere Analysen eingefroren beziehungsweise in Formalin fixiert. Außerdem wird die Galleproduktion protokolliert und die Gallenflüssigkeit vermessen und anschließend eingefroren.

Nach 24 Stunden wird der Liver Assist[®] abgeschaltet, und das Organ an das pathologische Institut der Medizinischen Universität Graz zur weiteren Evaluierung gesendet.

Jede Perfusion wird von einem CRF (Case Report Form) der jeweiligen Leber begleitet. In diesem Fallbericht werden Leber- und Perfusionsspezifische Informationen protokolliert.

Nach einer Stunde werden nicht nur die Blutgaswerte und Glukose kontrolliert, sondern auch Lebergewebsproben und Perfusat für spätere Analysen eingefroren beziehungsweise in Formalin fixiert. Danach werden die Parameter halbstündlich kontrolliert bis zum Perfusatwechsel (die Hälfte des Perfusativolumens wird durch frisches Perfusat ersetzt) nach 6h Perfusion (Abbildung 6). Im Anschluss daran muss der pH und die restlichen Parameter erneut eingestellt werden.

¹⁰³ Bote G. Bruinsma et al., "Functional human liver preservation and recovery by means of subnormothermic machine perfusion," *Journal of visualized experiments : JoVE*, no. 98 (2015).

¹⁰⁴ Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

Vor Perfusion	Während Perfusion	Nach Perfusion
<ul style="list-style-type: none"> • Aufbau des Liver Asisst® Geräts mit Perfusionslösung • Vorbereitung der Leber und Kanülierung • Einführen der Leber in den Liver Asisst® • Hinzufügen von Antibiotika/ Antimykotika: <ul style="list-style-type: none"> • Penicillin (10 KU/ml)/ Streptomycin (10mg/ml) • Amphotericin B (250 µg/ml) • Einstellen der Drücke an Zielflüsse <ul style="list-style-type: none"> • Portalvene: 275- 325 ml/min*kg • Leberarterie: 50-100 ml/min*kg • Oxy mix: Fluss 1 l/min • Temperatur: 21°Grad 	<ul style="list-style-type: none"> • Probenentnahme (jede Stunde) • Bestimmung der Perfusatgase (mit ePOCT®) • Einstellen des pH-Wertes zwischen 7,2 und 7,3 • Einstellen des Basenüberschusses zwischen -2 und 2 • Schockfrieren der Perfusatproben (Cryo) • Abnahme von Gewebeproben (FFPE, Cryo) • Erneuerung des Perfusats um 50% nach sechs Stunden 	<ul style="list-style-type: none"> • Organ wird an die Pathologie gesendet • Liver Asisst® wird heruntergefahren • Reinigung

Abbildung 6: Aufsetzen eines Perfusionsprotokolls

2.6 ZUSATZMATERIALIEN

- Sterile Cryo tubes für die Gewebeprobenentnahme zum Schockfrieren (Cryo.s 2ml, PP: greiner bio-one Artnummer 121263)
- Röhrchen für Perfusatproben (Safelock 1,5ml: Eppendorf Artikelnummer 0030123328)
- Lagerungsboxen für das Schockfriermaterial,
- Stickstoffgefüllter Behälter für das Schockfrieren
- Kassetten für die Gewebeprobenlagerung in Formalin
- 4% Formaldehyde zur Fixierung der Proben
- Spritzen (1ml,2ml,5ml,10ml, 20ml) zum Entlüften, Probennahme und Zugabe von Substanzen

3 ERGEBNISSE

3.1 LEBERQUALITÄT VOR PERFUSIONSSTART

Im Rahmen der Studie wurden Lebern von 16 Spender*innen für eine SNMP mit verschiedenen Perfusaten verwendet (Tabelle 7).

Tabelle 7 Perfusionslösungen

Custodiol®	Custodiol MP®	Belzer MPS®
Leber 1	Leber 7	Leber 8
Leber 2	Leber 16	Leber 9
Leber 3		Leber 10
Leber 4		Leber 11
Leber 5		Leber 12
Leber 6		Leber 13
		Leber 14
		Leber 15

Zusätzlich sind aus den ET Reports Vorerkrankungen der Spender*innen entnehmbar, die den Ausgang der MP beeinflussen können. Der*die Spender*in mit den meisten Vorerkrankungen ist Leber 15 mit einem Diabetes Mellitus Typ 2, Zustand bei Nikotinabusus, einer arteriellen Hypertonie und einer koronaren Herzerkrankung. Dagegen zeigt der Spenderkörper von Leber 11 kardiovaskulär, pulmonal, gastrointestinal usw. keine Auffälligkeiten abgesehen von der Diagnose der Tumorerkrankung, mit keinem Verdacht auf einen Lebertumor, sodass diese Leber als ein unbeschädigtes Organ angesehen werden kann. Die häufigste Vorerkrankung ist die arterielle Hypertonie, dicht gefolgt von dem schädlichen Abusus von Nikotin. Sieben Spender*innen litten an einem Bluthochdruck, während sechs Spender*innen Raucher*innen waren. In sechs Fällen bestand außerdem die Wahrscheinlichkeit eines tumorösen Geschehens im Spenderkörpers nach Explantation, aber in keinem Fall war ein hepatozelluläres Karzinom beschrieben. Andere Vorerkrankungen wie Diabetes Mellitus Typ 2, schädlicher Alkoholabusus, eine Gefäßerkrankung und Zustand nach Hepatitis A und Steatosis hepatis findet man jeweils bei zwei Spender*innen.

Einen BMI über 30 kg/m² haben sieben von sechzehn Spenderkörper gehabt, während einen BMI unter 30 kg/m² neun Spender*innen besaßen. Der*die

Spender*in von Leber 8 hatte den höchsten BMI mit 44 kg/m². Der*die Spender*in von Leber 10 hatte den niedrigsten BMI mit 20 kg/m². Der BMI steht im Zusammenhang mit dem Ablehnungsgrund. In den meisten Fällen ist, bei einem erhöhten BMI, auch der Ablehnungsgrund durch eine Steatose gegeben.

Unter den Spender*innen sind zehn über 65 Jahre alt und sechs unter 65 Jahre alt. Die ältesten Spender*innen waren 81 Jahre alt (Leber 11, Leber 12) und der*die Jüngste 44 Jahre (Leber 4).

Des Weiteren zeigt Tabelle 8 den qualitativen Status der Lebern vor Perfusionsstart gemessen an den Parametern: Ultraschallbeschreibung beziehungsweise CT-Beschreibung (Computertomographie), Dauer der Eislagerung und Ablehnungsgrund. Bei Leber 3 ist schon bei der Sonographie eine Steatose sichtbar, wurde zwölf Stunden auf Eis gelagert und wurde wegen einer Steatose des Lebergewebes abgelehnt. Leber 14 zeigt dagegen keine Auffälligkeiten bezüglich einer Lebererkrankung in der Ultraschalluntersuchung auf und wurde nur acht Stunden und einundzwanzig Minuten auf Eis gelagert. Bei fünf Lebern wurden keine sonographischen Informationen bereitgestellt, daher wurden die Computertomographiebeschreibungen verwendet.

Leber 3 zeigt als einziges Organ im Ultraschall Auffälligkeiten in Richtung Lebersteatose, bei zehn Lebern wurden sonographisch keine Auffälligkeiten in Richtung einer Lebererkrankung gefunden und bei fünf wurde ein CT gemacht mit keinen beschriebenen Auffälligkeiten der Lebern.

Die Dauer der Eislagerung der verschiedenen Organe sind unterschiedlich. Fünf der Lebern wurden unter zwölf Stunden auf Eis gelagert, während elf über zwölf Stunden in der Eisbox aufbewahrt wurden. Mit 29 Stunden hat Leber 13 am längsten auf Eis gelegen, während Leber zwei nur 3 Stunden gelagert wurde, bevor die MP startete.

Es gab drei Ablehnungsgründe, weshalb die Lebern nicht reimplantiert wurden:

1. Mikro- oder makroskopische Pathologiebefunde der Lebern
Lebererkrankung(Steatose, Fibrose, Zirrhose)
2. Verdacht auf einen Tumor im Körper

3. Andere Gründe wie zu hohes Spenderalter, lange Ischämiezeit, kein passender Empfänger

50% der Lebern wurden abgelehnt, da diese eine Steatose, Zirrhose oder ähnliches aufwiesen, welches eine Einschränkung der Qualität der Lebern bedeuten. Fünf der Lebern zeigten als Ablehnungsgrund einen Verdacht auf eine Malignität und drei der Lebern führen andere Gründe auf.

Tabelle 8 Zusammenfassung der qualitativen Ausgangssituation

	Vorerkrankungen	BMI (in kg/m ²)	Alter (in Jahren)	Bildgebung (Ultraschall oder CT)	ISC (Std.)	Ablehnungsgrund
Leber 1	Verdacht auf Tumor, DM 2	43	72	CT: Normal große Leber, diese mit einem cc-DM von 18,5cm und einem Transversal-DM von 17,5cm.	11:30	Prostatakarzinom
Leber 2	SLD, Hepatitis A, Raucher	26	68	US: Form und Größe regelrecht, Struktur soweit einsehbar homogen, normale Echodichte, Lebervenen geringgradig dilatiert bis in die Peripherie verfolgbar, Pfortader unauffällig, Gallengänge intra- und extrahepatische normale weite	03:00	20% Makro-/ Mikrosteatose; Fibrose; Steatobepatitis
Leber 3	Raucher, Alkoholkonsum	32	77	US: Hepatomegalie mit ausgeprägter Steatosis Hepatis, keine Cholestase, keine tumorsuspekten Veränderungen	12:00	Steatose
Leber 4	Steatosis hepatitis, Hepatomegalie, Neoplasma benignum ovarii	33	44	US: kein abnormale, auffällige Abnormalität in der Leber. Gallenblase regelrecht. Keine intrahepatische Gallengangdilatation	23:00	40% Mikro, und Makrosteatose
Leber 5	Raucher, Plattenepithelkarzinom	20	59	US: homogen, normale Echodichte, Lebervenen und Pfortader normal perfundiert, geringer Aszites	11:50	Nierenzellkarzinom
Leber 6	Hypertonie, Herzkrankung (Vorhofflimmern), Gefäßkrankung (venöse Insuffizienz)	24	80	US: Leber gering hyperechogener als Nieren. Keine Zirrhose, kein Aszites, keine Rundherde. Lebertrand spitz. GB gefüllt	18:00	hohes Alter, lange Ischämiezeit
Leber 7	Nichts bekannt	35	66	US: normale Form und Größe, Leberoberfläche glatt, Leberunterrand spitzwinklig. Von transkostal vom Leberberrand max 10,17 cm messend. Lebervenen im Konfluenz geringgradig dilatiert (1,25cm). Pfortader orthograd perfundiert. Soweit bei eingeschränkten Bedingungen eruebar , keine Raumforderungen	12:30	>30% Steatose; mit Fibrose beginnender Zirrhose
Leber 8	Hypertonie	44	54	CT: Die Leber homogen kontrastiert, kein Nachweis fokaler Läsionen. Geringst freie Flüssigkeit perhepatisch .	14:10	70% Steatose
Leber 9	Hypertonie, Gefäßkrankung (Aortensklerose, Aortenektasie)	28	76	Leber homogen, keine RF, Gefäße unauffällig, Gallenblase hydropisch, Gallengänge intra- und extrahepatisch unauffällig	17:00	50% Steatose

Leber 10	Nichts bekannt	20	56	17:20	CT: flau Hypodensität li Leberlappen - Dignität nicht zu beurteilen; Leber: 23,4 cm, keine Cholestase; DHC schlank	Lungenläsion und Verdacht auf Malignität
Leber 11	Meningiom	29	81	17:30	CT: Leber rechts: 23x10cm, links 7cm, homogene Strukturierung, keine Cholestase, keine usp , fokalen Läsionen, V.pordae , regulär perfundiert.	Zirrhose; hohes Alter
Leber 12	Hypertonie, verdächtige Läsion -Herzkrankung	25	81	12:50	glatte Oberfläche, homogenes Parenchym, sonographisch keine RF abgrenzbar, Lebervenen zart und perfundiert, Pfortader perfundiert, Gallenwege: intrahepatisch befont, jedoch nicht dilatiert	Verdacht auf Melanom
Leber 13	Raucher, Alkohol,	23	49	29:10	CT	Verdacht auf Chondrosarkom
Leber 14	Hypertension, Herzkrankung, Raucher, Melanom	25	78	08:21	regelmäßige Darstellung des Leberparenchyms, keine parenchymsetzender Läsionen. Unauffällige intra- und extrahepatische Gallenwege, regelmäßige Darstellung der Pfortader, der Lebervenen und der A. hepatica	kein Empfänger
Leber 15	Hypertension, DM 2, Raucher, Herzkrankung	30	67	03:31:00	Leber homogen, erhöhte Echogenität , Leberrand etwas abgestumpft, DHC 0,62, Pfortader anteograd , perfundiert, Lebervenen unauffällig	Steatose, Fibrose
Leber 16	Hypertension	31	52	15:45:00	Leber großmässig im Normrahmen, max a.p. Durchmesser ca. 14 cm haltend, im maximalen kraniokaudalen Durchmesser knapp 20 cm, im max. Querdurchmesser ca. 24cm messend, lipomatöses Leberparenchym, keine fokalen Parenchymläsionen , intra- und extrahepatische Gallengänge im Normbereich.	Steatohepatitis

3.2 PERFUSATGASANALYSE

Während der Perfusion werden, die Perfusatgase, die Galleproduktion sowie die zugegebenen Volumina von Natriumbikarbonat und Glukose aufgezeichnet. Die Perfusatwerte nach 1, 6, 7 und 24h Perfusion werden für die Analyse herangezogen. Aufgeteilt werden die Lebern anhand der verwendeten Perfusionslösungen. An den verschiedenen Zeitpunkten werden die Mittelwerte der drei Perfusatlösungen aufgezeigt.

Diagramm 1 bildet die Veränderungen im pH-Wert im Verlauf der Maschinenperfusion ab. Custodiol® hat laut Hersteller einen pH-Wert von 7,02-7,2 bei 25°C Umgebungstemperatur¹⁰⁵, für Belzer MPS® liegt der pH-Wert bei 7,4¹⁰⁶ und Custodiol MP® weist eine pH-Wert von 6,9 auf¹⁰⁷. Für Lebern 1-6 liegt der pH-Wert zu Beginn unter 7,0 konnte aber mit Hilfe von Bikarbonat ausgeglichen werden. Für Lebern 7-16 lag der initiale pH-Wert über 7,0. Nach Stunde sieben war der pH-Werte fast aller Lebern stabil und wichen nur noch minimal von dem vierundzwanzigsten Wert ab. Nach 24h SNMP schaffen die Lebern der Custodiol® Gruppe das Perfusat den pH über 7,0 auszugleichen, während die Custodiol MP®- und die Belzer MPS®- Lebern sich bei 7,2 bis 7,4 einpendeln.

Der Basenüberschuss ist in Diagramm 2 dargestellt. Im menschlichen Blut sollte der Basenüberschuss zwischen -2 und +3¹⁰⁸ liegen. Nach einer Stunde Perfusion liegt der BE- zwischen -35 und 1,8 mmol/l. Nach 6 Stunden liegen die Werte zwischen -25 und 10,3mmol/l. Im weiteren Verlauf der Perfusion gleichen sich die BE-Werte immer mehr an. In Diagramm 2 zeigt sich, dass die Lebern mit der Custodiol Perfusionslösung bei -23 anfangen (sauer), sehr schnell steigen bis Stunde 6 auf -6,5 und dann konstant bei einem Basenüberschuss zwischen 0 und -10 bleiben. Die Belzer MPS® und die Custodiol MP® Lösungen sind da stabiler. Die Lebern fangen

¹⁰⁵ Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen, "Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels: Custodiol-Perfusionslösung," 1994, https://aspregrister.basg.gv.at/aspregrister/faces/aspregrister.jspx?_afLoop=1710528580510105&_afWindowMode=0&_adf.ctrl-state=b6tc6ht64_4.

¹⁰⁶ Bridge to Life, "Belzer MPS, Organkonservierungslösung (UW Machine Perfusion Solution) ."

¹⁰⁷ Frauke W. Dr.F.Franz Köhler, "Custodiol-MP- Basislösung," (2019).

¹⁰⁸ amboss, "Säure-Basen- Haushalt: Regulation des Säure-Basen-Haushalts in den Organen," 2020, <https://next.amboss.com/de/article/lo0YWS?q=S%C3%A4ure%20basen%20haushalt#Z49684269b5f142564183f0d57b95ec4c>.

an mit einem BE-Wert zwischen 0 und -6,8 und sind dann weitgehend stabil über die 24 Stunden.

Die Werte des Basenüberschusses variieren sehr stark. Es sind viele Werte weit vom Mittelwert entfernt. Während die pH-Werte eher stabil sind.

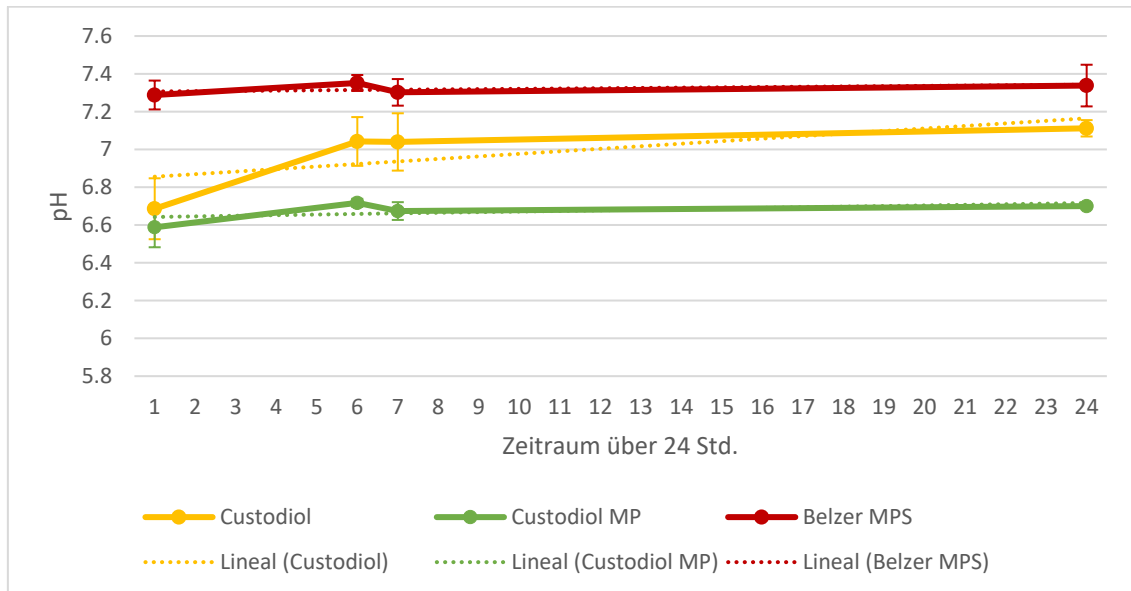


Diagramm 1: pH-Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)

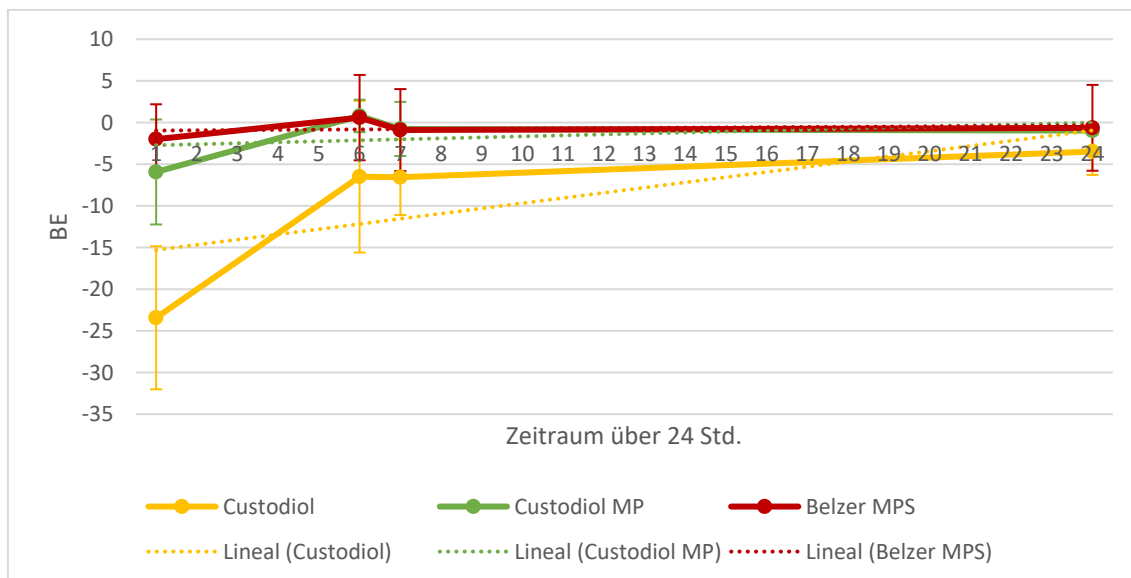


Diagramm 2: BE-Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)

Für den Ausgleich des Basenüberschusses und des pH-Wertes wurde Natriumbikarbonat appliziert (Diagramm 3). Am meisten Natriumbikarbonat haben die Leberperfusionen mit Custodiol MP[®] benötigt.

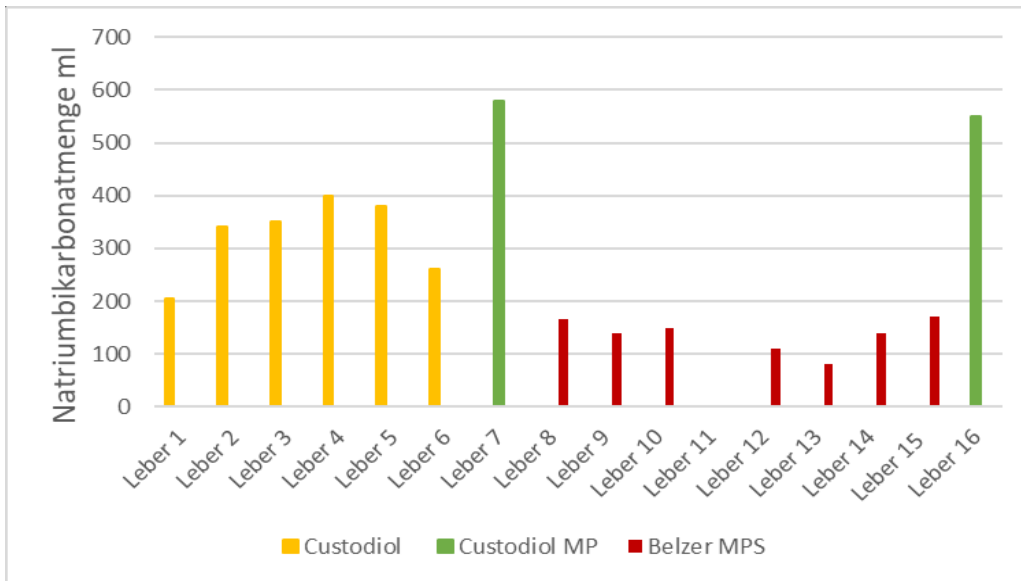


Diagramm 3 Gesamtvolumen Natriumbikarbonat

Entscheidend ist auch der Zeitpunkt, an dem Natriumbikarbonat hinzugegeben werden musste. In Diagramm 4 erkennt man, dass Natriumbikarbonat am häufigsten zwischen der ersten und der zehnten Stunde dazugegeben werden musste. Am Anfang musste bei fast allen (außer Leber 11) Natriumbikarbonat hinzugefügt werden. Über die Zeit hinweg nach Stunde zehn dagegen, musste der pH-Wert und der Basenüberschuss nur noch bei einigen Lebern, vor allem bei den Lebern 6,7,8,10 und 16, nachjustiert werden.

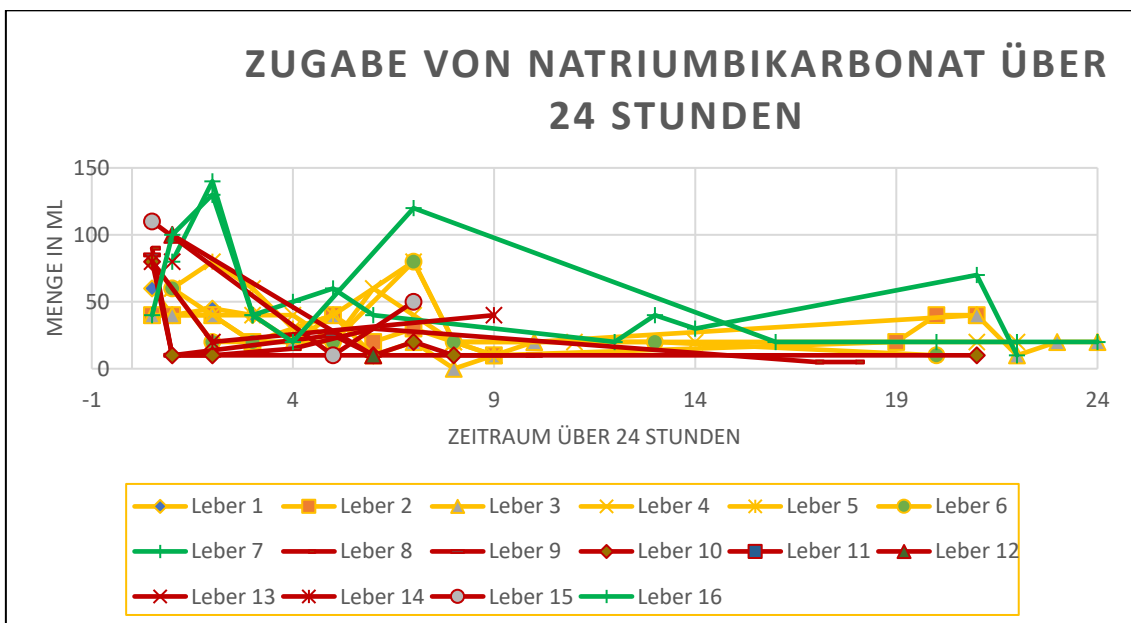


Diagramm 4: Zugabe von Natriumbikarbonat

Vergleicht man die Graphik der pH-Werte und der Basenüberschuss-Werte mit der applizierten Natriumbikarbonatmenge über die Zeit, sieht man, dass nach Stunde 10 weniger Natriumbikarbonat hinzugegeben werden muss im Vergleich zu Beginn der MP.

Der partielle Sauerstoffdruck (Diagramm 5) konnte in 11 Perfusionen gemessen werden (Leber 4, Leber 7-16). Die fehlenden pO₂-Werte, waren im ePOC[®]-Gerät nicht messbar. Der Druck schwankt zwischen 304,3 mmHg und 724,8 mmHg während der Sauerstoffpartialdruck im Blut zwischen 71-104 mmHg liegt. Die Custodiol[®] Gruppe hat am Anfang der MP viel niedrigere Werte als die anderen beiden Perfusate. Der Wert steigt jedoch bis Stunde 6 und 7 an und bleibt dann relativ konstant. In den anderen beiden Gruppen sinkt der Wert am Anfang leicht ab, aber nach Perfusionswechsel steigt er und bleibt dann auch konstant bei circa 500mmHg.

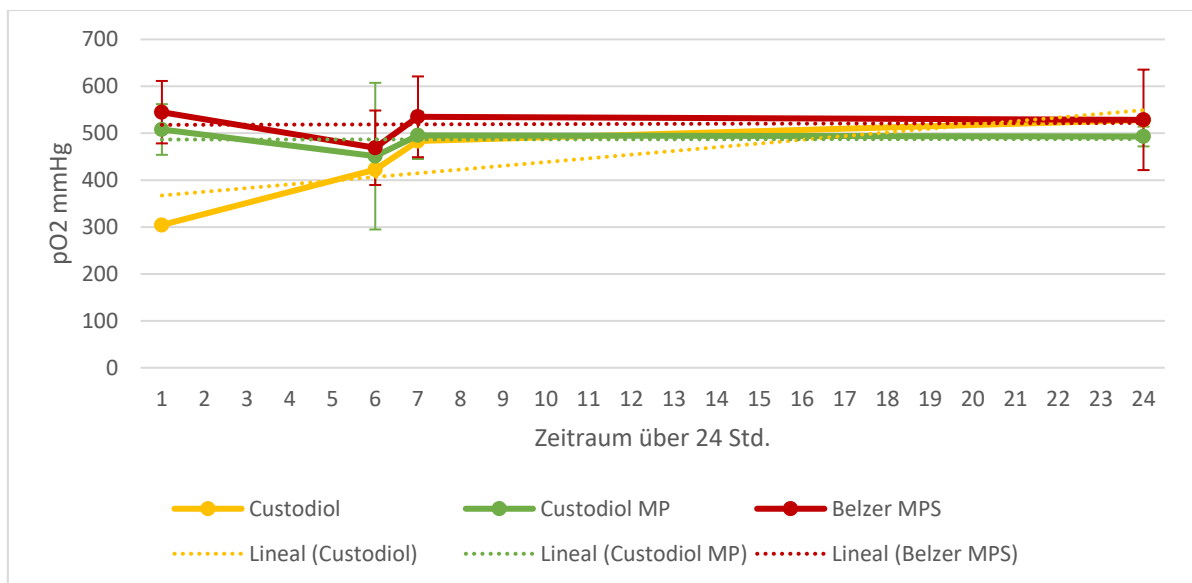


Diagramm 5: pO₂-Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD), für Leber 1,2,3,5,6 (Perfusionen mit Custodiol[®]) sind keine pO₂-Werte vorhanden

Der partielle Kohlenstoffdioxidwert ist über den Zeitraum von vierundzwanzig Stunden konstant (Diagramm 6). Der höchste Wert liegt bei 111,3mmHg, während der niedrigste Wert bei 29,3mmHg liegt. Die Custodiol[®] Gruppe fängt bei einem hohen Wert von 76 mmHg an und im Verlauf bleiben die pCO₂- Werte konstant hoch.

Während die Gruppen mit Belzer MPS[®] und Custodiol MP[®] zwischen 50 und 60mmHg schwanken und im Verlauf ähnlich niedrig bleiben.

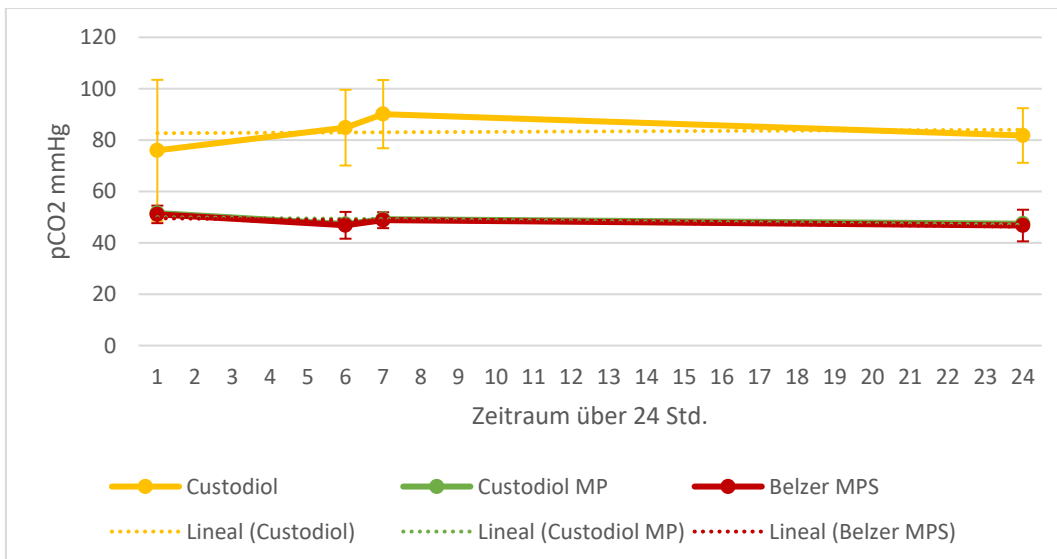


Diagramm 6: pCO₂-Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)

Die Elektrolyte konnten durch die Limitierung des Blutgasmessgeräts ePOC[®] nicht adäquat gemessen werden.

Die Änderungen der Laktatkonzentration sind in Diagramm 7 dargestellt. Bis Stunde sieben bleiben die Werte annähernd konstant, nach Perfusatwechsel steigen die Laktatkonzentrationen bis Perfusionsende bei allen Gruppen deutlich an. Die Custodiol MP[®] Gruppe fängt ähnlich an wie die anderen Gruppen bei 5 mmol/l, steigt dann aber am steilsten an.

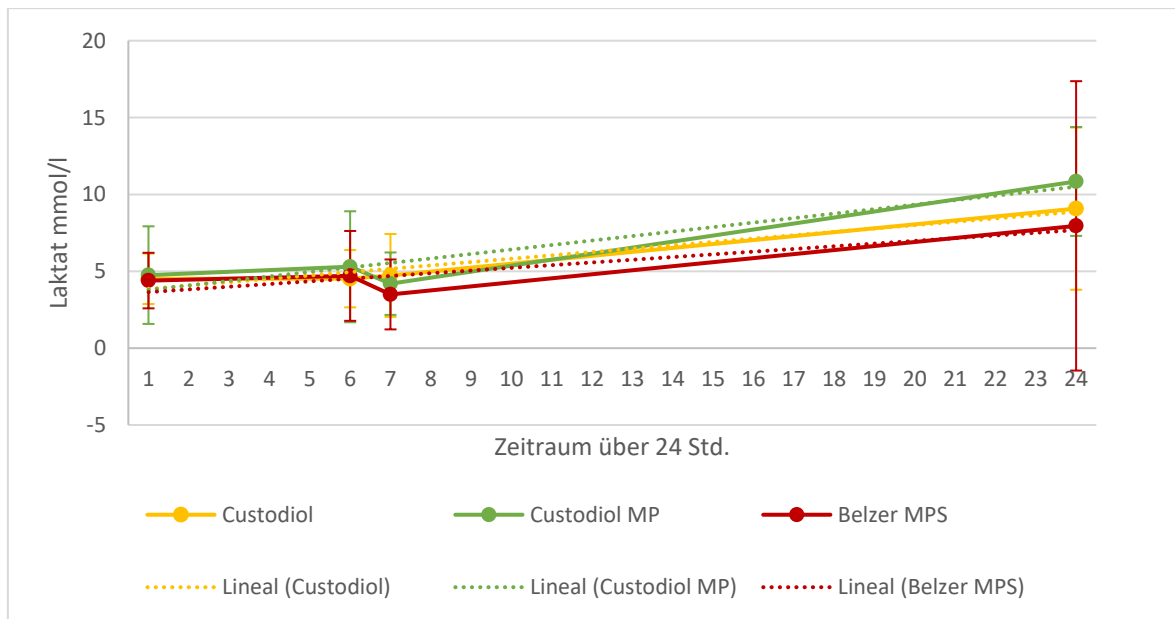


Diagramm 7: Laktatwerte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)

Die Veränderung der Glukosekonzentration im Perfusat über die Perfusionsdauer ist in Diagramm 8 abgebildet.

Bereits an Stunde eins ist eine Zweiteilung hinsichtlich der Glukosekonzentration im Perfusat erkennbar. Die Custodiol® Gruppe bleibt mit den Glukosewerten zwischen 150 und 200 mg/dl, während die Custodiol MP® und Belzer MPS® Gruppen bei 400 mg/dl starten und dann leicht steigen bis circa 600mg/dl. Alle Gruppen steigen leicht an und verzeichnen einen kleinen Abfall nach Perfusatwechsel.

Genauso wie bei der Balance des pH-Wertes und des Basenüberschusses, muss auch bei den Glukosewerten auf die richtige Konzentration im Perfusat geachtet werden. Im Fall, dass die Glukoselevels unter 80 mg/dl sanken, wurden die Levels mittels 5%Glukose auf 100mg/dl eingestellt. Dies war für Leber 1 (40ml Glukose Gesamtvolumen), Leber 2 (80ml Glukose Gesamtvolumen), Leber 3 (350ml Glukose Gesamtvolumen), und Leber 6 (110ml Glukose Gesamtvolumen) der Fall.

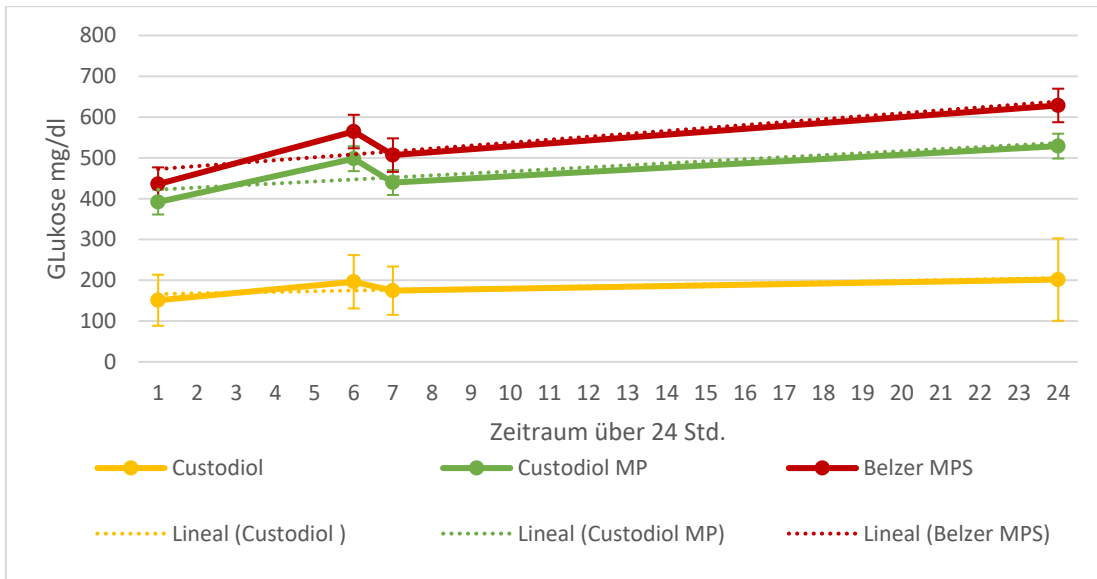


Diagramm 8: Glukosewerte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)

3.3 GALLEPRODUKTION

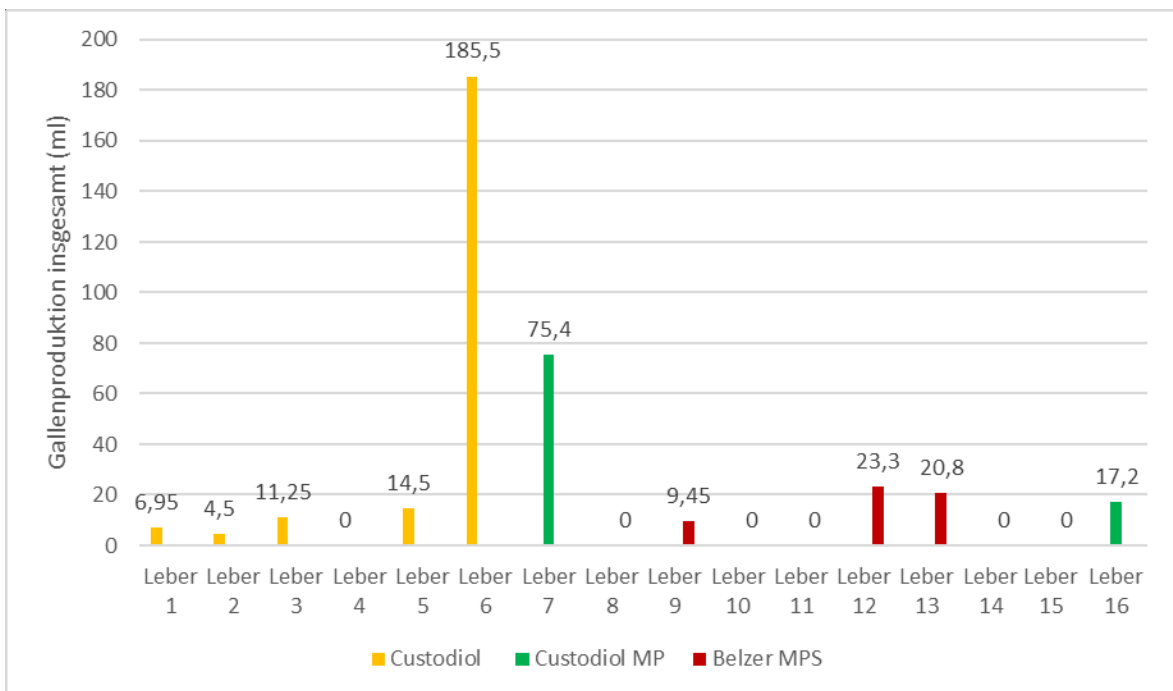


Diagramm 9: Galleproduktion

Leber 1- 3, Leber 5, Leber 9, Leber 12, Leber 13 und Leber 16 haben in den 24 Stunden zwischen 4 und 23ml Galle produziert. Leber 6 (185,5ml) und Leber 7 (75,4ml) haben im Vergleich zu allen anderen am meisten Galle produziert. Leber 4, Leber 8, Leber 10, Leber 11, Leber 14 und Leber 15 haben über den gesamten Zeitraum keine Galle produziert. In Diagramm 10 sieht man, die Galleproduktion der

einzelnen Gruppen im Zeitverlauf. Die Belzer MPS® Lebern haben wenig Galle produziert und im Verlauf sehr schwankend. Tendenziell wurde die Menge an Gallenproduktion zum Ende der MP mehr. Die Lebern mit Custodiol® und Custodiol MP® haben mehr Galle produziert im Vergleich zu den Belzer MPS® Lebern und die Menge an Galle stieg auch an über die Zeit der MP.

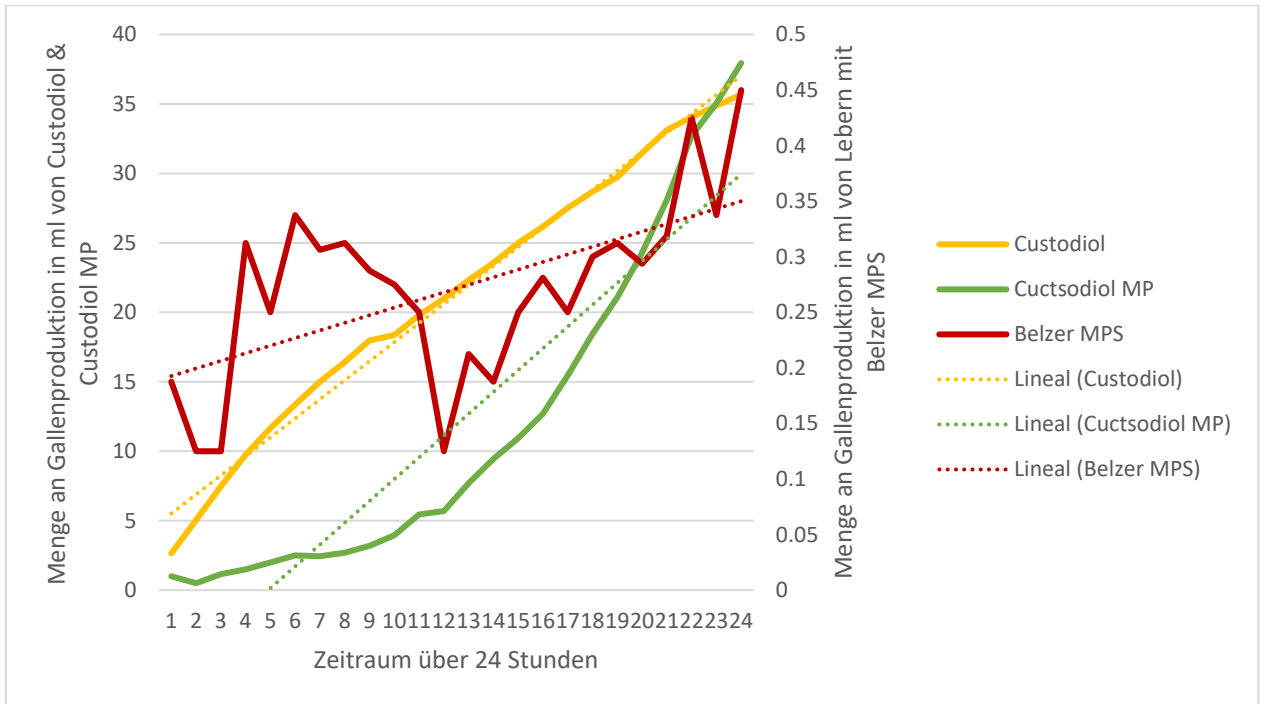


Diagramm 10: Gallenproduktion über 24-Stundenperfusion

Um Rückschlüsse auf die Qualität der produzierten Galle zeigen zu können, wurden pH, Glucose und Laktatwerte mit denen der korrespondierenden Perfusatsamples verglichen. Bei den aufgeführten Lebern konnten die Parameter in der produzierten Galle gemessen werden.

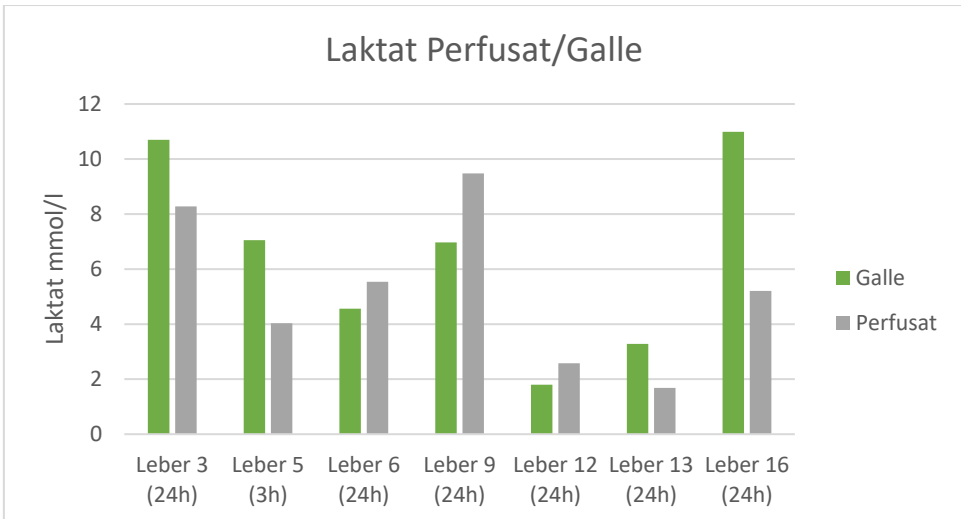
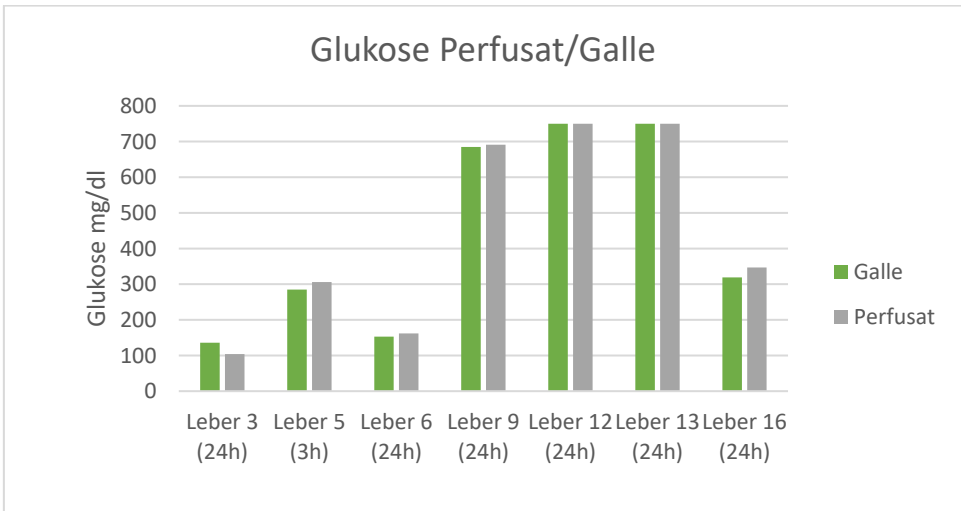
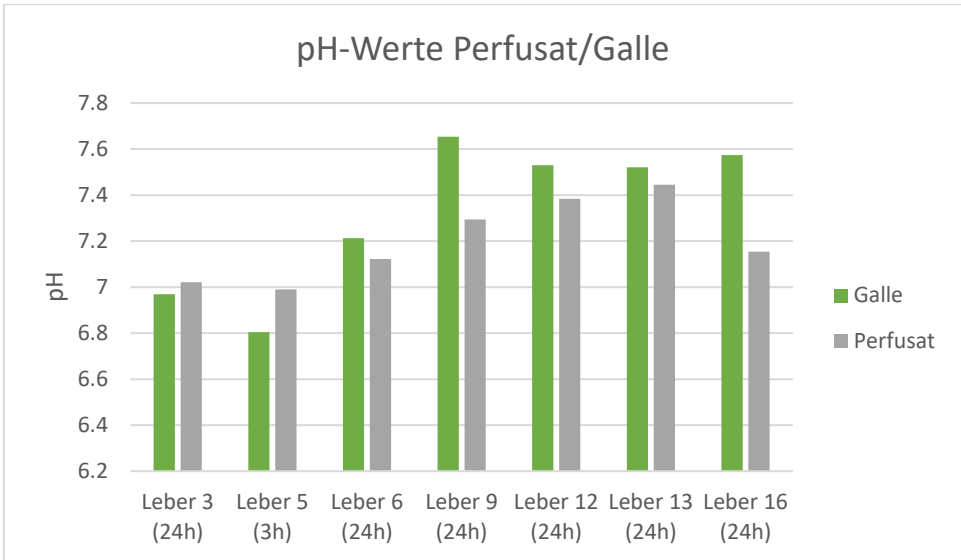


Diagramm 11 Vergleich Perfusat-/Gallenwerte

In Diagramm 11 werden die pH-, Glukose- und Laktatlevels der Galle von den Galleproduzierenden Lebern, zur letzten Stunde, an der gemessen wurde mit den an der

Stunde gemessenen Perfusatwerten (Stunde 24, im Falle von Leber 5 Stunde 3), verglichen.

Wie im ersten Diagramm (Diagramm 11) erkennbar sind bei Leber 3 die pH-Werte von Galle und Perfusat sehr ähnlich, während bei Leber 5 der pH-Wert der Galle bei 6,804 liegt und der pH-Wert der Perfusatflüssigkeit bei 6,99. Bei allen anderen Lebern ist der pH-Wert der Galle höher als im Perfusat. Vor allem bei Leber 9 und Leber 16 sind die Werte weit auseinander. Der pH-Wert der Galle ist bei über 7,5, während im Perfusat der pH-Wert unter 7,3 ist an Stunde 24.

Im zweiten Diagramm (Diagramm 11) erkennt man, dass die Glukoselevels in der Galle und dem Perfusat sehr ähnlich sind. Bei Leber 12 und Leber 13 sind die Glukosewerte identisch über 750 mg/dl sowohl in der Galle als auch im Perfusat. Auch bei den anderen Lebern sind die Werte fast identisch im Vergleich.

Die Laktatwerte sind hingegen unterschiedlich. Bei Leber 3,5,13 und 16 ist der Laktatwert in der Galle höher als im Perfusat, während bei Leber 6,9 und 12 der Gallenlaktatwert niedriger ist als der Perfusatlaktatwert.

3.3.1 Druck-/ Flusskurve der versorgenden Lebergefäße

Um die Organqualität besser beurteilen zu können, müssen auch die Fluss-Druck Kurven der 24-stündigen SNMP in die Auswertung mit einbezogen werden. Der Liver Assist[®] funktioniert druckkontrolliert, sodass die Flüsse, unter Einhaltung der eingestellten Druckgrenzen, konstant bleiben. Ein Beispiel der Fluss und Widerstandskurven ist in Diagramm 12 und Diagramm 13 zu sehen.

Für die MP wurde für die Leberarterie für den Fluss eine Untergrenze von 50 ml/min*kg und eine Obergrenze von 100 ml/min*kg eingestellt. Die Druck-Flusskurve der Leberarterie zeigt, dass die Werte des Widerstands über 24 Stunden ungefähr zwischen 0,005- 2,47 und die Flusswerte zwischen 0 und 180 ml/min liegen. Der Gefäßwiderstand in der über die Formel Druck/Fluss errechnet werden und soll den Widerstand der Gefäßwand aufzeichnen. Die Kalkulation des Gefäßwiderstandes in der Arterie spiegelt die Beweglichkeit der Gefäßwand wider. Nach dem Anschluss der Leber an den Liver Assist[®] pendeln sich die Werte langsam ein und ungefähr nach 18 Stunden steigt der Widerstand langsam an, während der Fluss sinkt.

Die Flüsse der Portalvene wurden zwischen 275 und 325 ml/min*kg eingestellt. Die Widerstandswerte liegen in dem Beispiel zwischen 0 und 0,011 mmHg*ml/min und die Flusswerte zwischen 0 und 665 ml/min. Nach Perfusionsstart steigen die Werte leicht an, bleiben dann aber über 24 Stunden annähernd gleich.

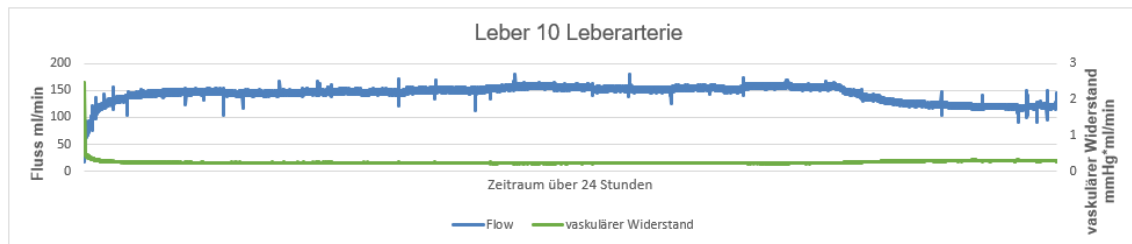


Diagramm 12 Fluss-/ Widerstandskurve der Leberarterie über 24 Stunden von Leber 10

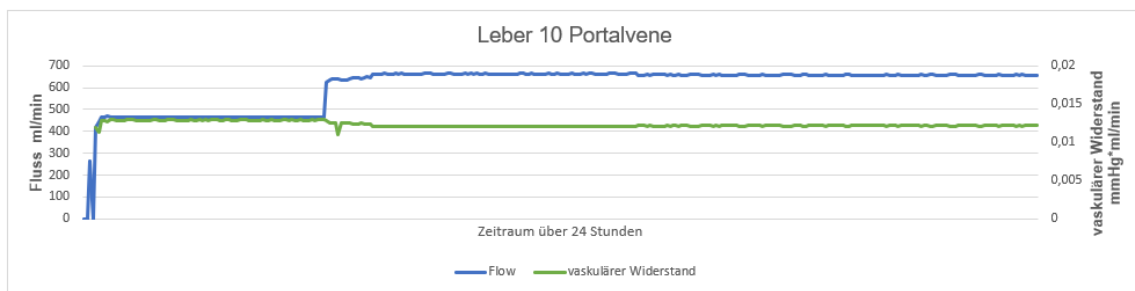


Diagramm 13: Fluss-/Widerstandskurve in der Portalvene über 24 Stunden von Leber

3.4 LEBERENZYME

Diagramm 14 zeigt die Alanin- Aminotransferase (ALT) während der 24h SNMP an den Zeitpunkten 1,6,7 und 24 aufgeteilt in die Perfusionsgruppen. Die Mittelwerte der ALT-Konzentrationen sind zu jedem Zeitpunkt höher als der klinisch definierte Normalwert. Vor und nach dem Perfusatwechsel (nach 6h MP) steigen die ALT Levels bis Perfusionsende an. Es lässt sich sagen, dass alle ALT Levels von Beginn an hoch sind und während der 24-stündigen SNMP weiter ansteigen. Außerdem fällt auf, dass die Custodiol® Gruppe höhere Werte aufzeigt als die beiden anderen Perfusate. Die Custodiol® Gruppe bewegt sich mit den Werten zwischen 800 und 1400 U/L, während die anderen beiden Gruppen mit den Werten zwischen 350 und 600 U/L liegen.

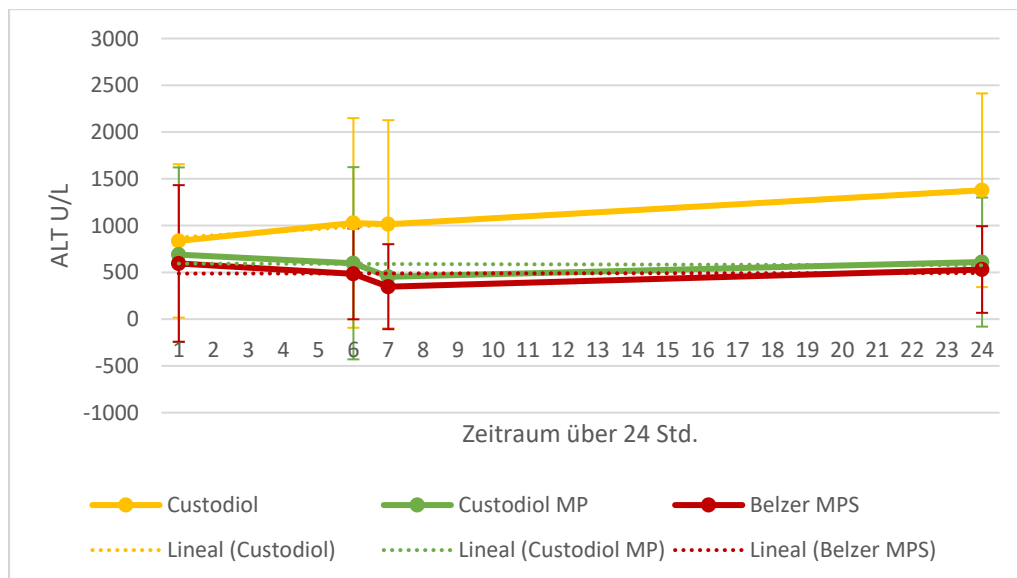


Diagramm 14: ALT-Werte der verschiedenen Perfusatlösungen (MW±SD)

Diagramm 15 zeigt die Aspartat Transferase (AST) für alle Spenderorgane während der 24h SNMP. Die AST-Levels liegen von Beginn an über den klinisch definierten Normalwerden. Nach einer Stunde SNMP liegen die Levels 54 U/L und 3545,8 U/L während nach 24h MP die Konzentrationen zwischen 231,1 U/L und 7491,6 U/L liegen. Auch hier zeigt die Custodiol® Gruppe die höchsten Werte.

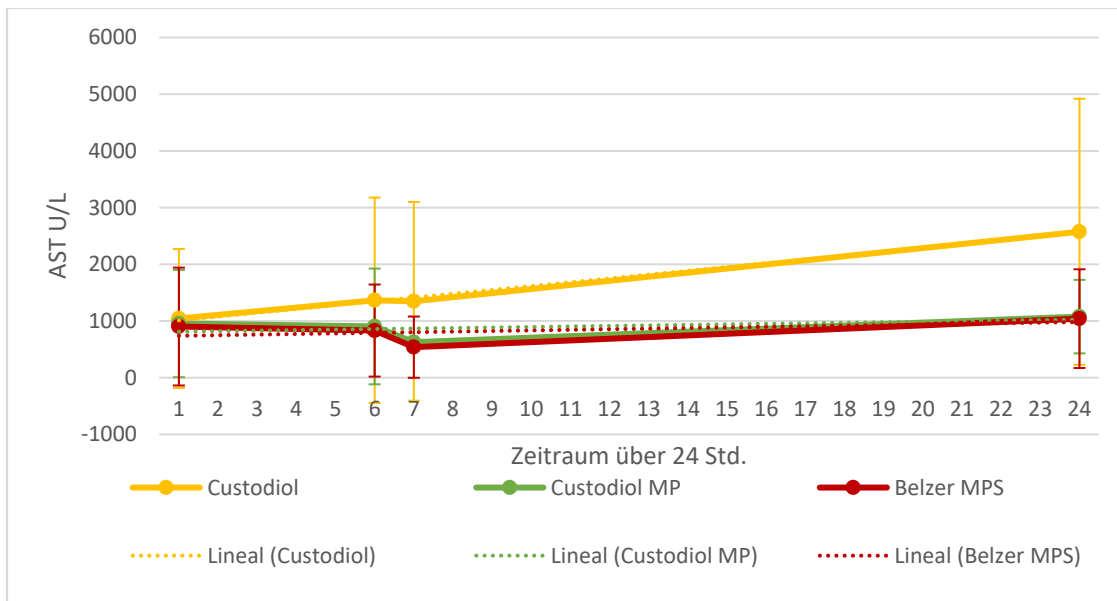


Diagramm 15:AST-Werte (MW±SD)

Diagramm 16 zeigt die Laktatdehydrogenase (LDH) über den gesamten Verlauf der MP. Nach einer Stunde SNMP liegen die LDH-Levels zwischen 178 U/L und 7660 U/L. Nach 24h SNMP liegen die LDH-Levels zwischen 426 U/L und 8501 U/L. Die Gruppe mit Custodiol® hebt sich auch hier deutlich von allen anderen Lebern ab, obwohl diese, im Vergleich zu AST und ALT, ebenfalls ein weniger homogenes Bild zeigen.

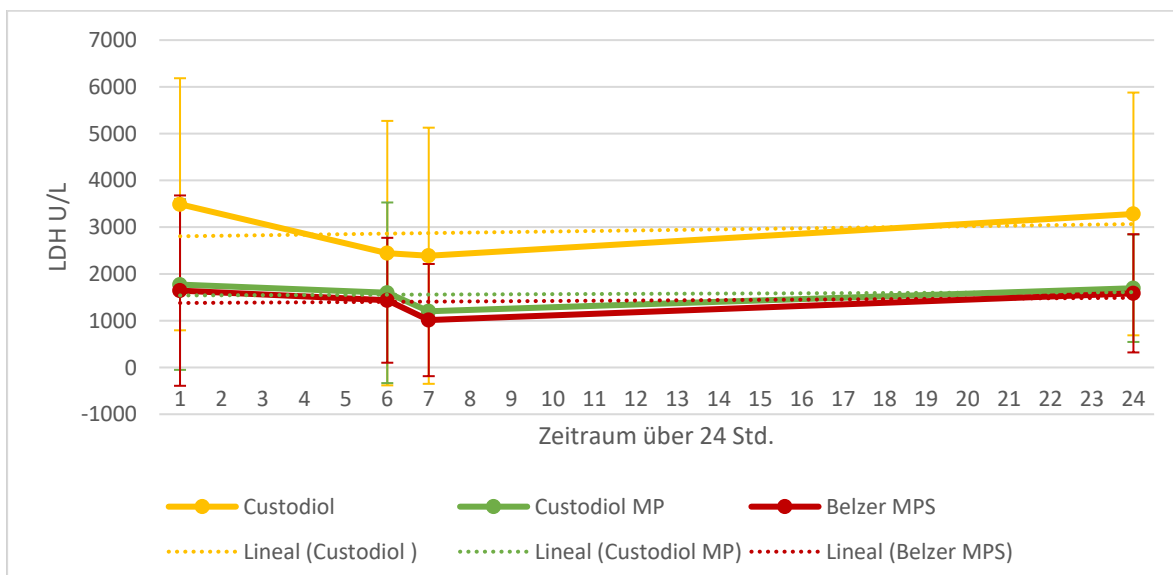


Diagramm 16: LDH-Werte (MW±SD)

Diagramm 17 zeigt Gamma- Glutamyl-Transferase (GGT) über den gesamten Zeitraum der SNMP. Zu Beginn der MP liegen die GGT-Levels zwischen 0 U/L und

12,9 U/L und nach 24h MP zwischen 2,3 U/L und 58 U/L. Die GGT-Levels von der Gruppe mit Custodiol® sind auch hier wieder auffällig hoch und ergänzen somit das bisher gezeigte Bild. Die Gruppe mit Custodiol MP® zeigt hier höhere Werte als die Gruppe mit Belzer MPS®. Die Werte schwanken aber sehr an den verschiedenen Zeitpunkten.

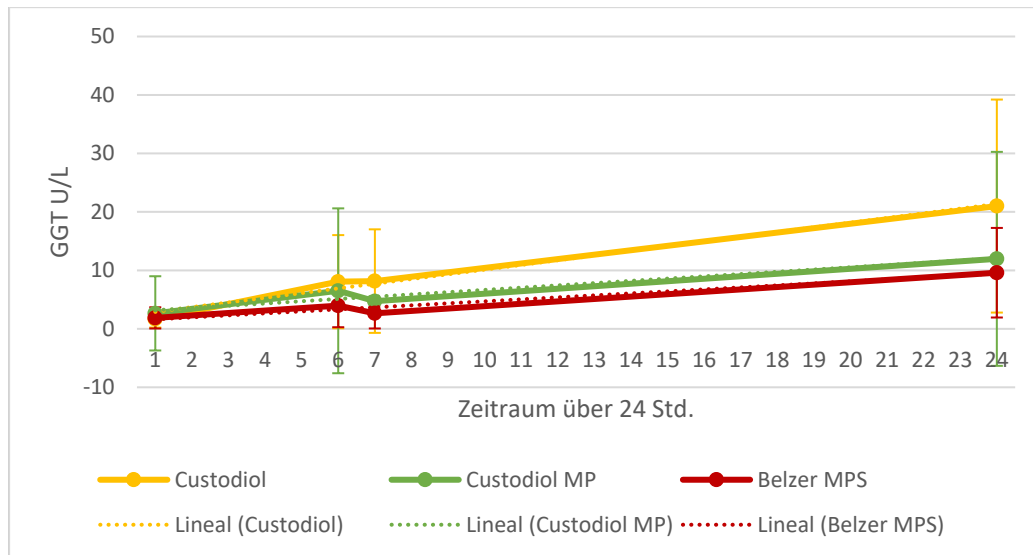


Diagramm 17: GGT-Werte (MW±SD)

Diagramm 18 zeigt die Alkalische Phosphatase (AP) über den gesamten Verlauf der SNMP. Es zeigt sich ein ähnliches Bild wie für GGT. Zu Beginn der SNMP liegen die AP-Levels zwischen 0,4 U/L und 18 U/L während die Levels nach 24h MP zwischen 3 U/L und 57 U/L liegen. Die Lebern mit Custodiol® zeigen auch hier von Beginn an die höchsten Levels, was zu den vorherigen Beobachtungen passt. Auch bei den Werten gibt es eine weite Verteilung der Werte.

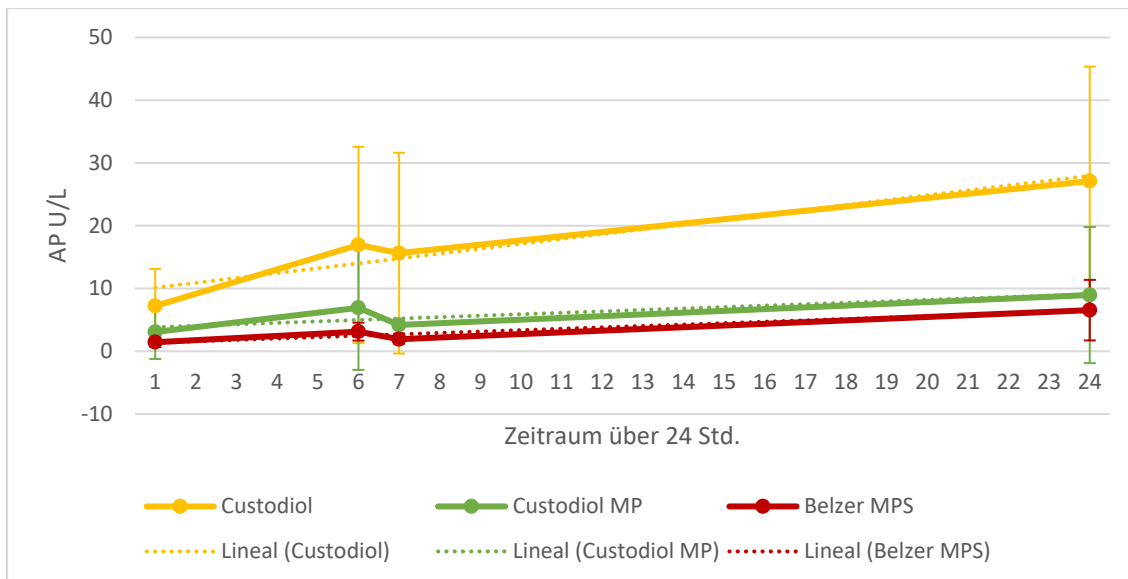


Diagramm 18: AP-Werte (MW±SD)

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Leberenzyme während der 24-stündigen SNMP kontinuierlich ansteigen. Die Lebern mit Custodiol® zeigen in allen Parameter von Beginn an auffällig hohe Konzentrationen, was auf eine sehr schlechte Organqualität schließen lässt, die auch durch SNMP nicht verbessert werden konnte. Allerdings sind die einzelnen Werte sehr verteilt und nur schwer mit dem Mittelwert beurteilbar

3.5 LEBERQUALITÄT IM VERLAUF DER SNMP

Kategorisiert wird anhand nachfolgender Gesichtspunkte: Die Leberenzymlevels ALT, AST und LDH nach 24h SNMP, Gallenmenge, Laktat, GGT- und AP-Levels nach 24h SNMP. Die Kombination mit Leberenzymwerten unter 1000 U/L (AST, ALT und LDH) und unter 15 U/L (GGT, AP) und Gallenproduktion über 25 ml und Laktat unter 10 mmol/l, zeigt eine gute Leberqualität.

In Tabelle 9 sind die Leberparameter zusammengefasst. Leber 3 und Leber 16 sind die qualitativ schlechtesten Organe mit sehr hohen Leberenzymen sowie GGT, AP, AST/ALT als auch Laktatlevels und wenig Galleproduktion.

In 75% der Fälle sind GGT, AP, ALT, AST und LDH-Levels in ähnlichem Maß hoch oder niedrig. Laktat hingegen steht in keinem sichtbaren Zusammenhang mit den Leberenzymlevels und der Gallenproduktion. Als qualitativ beste Organe sind dagegen Leber 5 und Leber 10 und während der MP bleiben

Leberenzymkonzentrationen und Laktat in niedrigen Bereichen aber beide produzieren kaum oder keine Galle.

Die Galleproduktion kann nicht mit den anderen Werten verglichen werden. Die Messwerte zeigen keine Gemeinsamkeiten mit den Leberenzymlevels oder den Laktatwerten. Dies könnte der sub-normothermen Temperatur geschuldet sein; die zwar Stoffwechselfvorgänge begünstigt, aber möglicherweise nicht in ausreichendem Ausmaß, um physiologische Galleproduktion, die als Marker für Leberfunktion verwendbar wäre, zu gewährleisten.

Die Laktatwerte sind nicht im Zusammenhang mit den Leberenzymwerten zu bringen. Während die Leberenzymwerte erhöht sind, dann kann der Laktatwert sowohl hoch als auch niedrig sein. Andersherum wenn die Leberenzymwerte niedrig sind, muss der Laktatwert nicht unbedingt auch niedrig sein.

Tabelle 9 Darstellung aller Parameter während SNMP

	Galleproduktion (ml)	Perfusionslösung	Glukose mg/dl	pH	BE (mmol/l)	Laktat (mmol/l)	AST/ALT (U/L)	LDH (U/L)	GGT (U/L)	AP (U/L)
Leber 1	< 25	Custodiol®	< 350	7,145	2	3,05	2145/1438	3482	18	22
Leber 2	< 25	Custodiol®	< 350	7,097	-2	13,89	603/ 333	1085	7	9
Leber 3	< 25	Custodiol®	< 350	7,021	-6	11,51	7684/3381	8667	58	57
Leber 4	0	Custodiol®	< 350	7,138	-5,5	16,87	2430 /2204	3783	28	47
Leber 5	< 25	Custodiol®	< 350	7,134	-5,6	4,97	406 /317	662	6,1	13
Leber 6	> 25	Custodiol®	< 350	7,135	-3,8	4,24	2369 /1090	2184	8,9	14,7
Leber 7	> 25	Custodiol MP®	< 350	7,118	-6	21,02	695/350	1255	6,5	11
Leber 8	0	Belzer MPS®	> 350	7,318	-1,9	6,26	2636/1644	4442	23,3	4,2
Leber 9	< 25	Belzer MPS®	> 350	7,338	0,7	8,05	709/472	1046	3,5	3,5
Leber 10	0	Belzer MPS®	> 350	7,322	-0,7	6,02	231/203	426	2,3	3
Leber 11	0	Belzer MPS®	> 350	7,075	-12,8	32,21	462/232	797	6,5	4,1
Leber 12	< 25	Belzer MPS®	> 350	7,412	4,8	3,77	350/150	564	7,3	7,1
Leber 13	< 25	Belzer MPS®	> 350	7,445	0,3	3,18	2382/789	2637	10,9	6,7
Leber 14	0	Belzer MPS®	> 350	7,354	-0,4	0,6	722 /278	1131	2,5	5
Leber 15	0	Belzer MPS®	< 350	7,439	4,9	3,55	837/472	1642	20,7	18,8
Leber 16	< 25	Custodiol MP®	> 350	7,135	-5,1	28,1	1992 /1730	3553	43,1	32,7

Legende: Darstellung aller Parameter, die die Qualität der Spenderorgane aufzeigen beziehungsweise beeinflussen (Leberenzymparameter, pH-Wert, BE, Laktat: alle an Stunde 24 gemessen), Punkte nach Perfusionsstart: Einteilung der Werte in über/unter Mittelwert, über Mittelwert:1 Pkt.; unter Mittelwert:0 Pkt. Laktat: 10,45; ALT: 1665,81; AST: 942,68; LDH: 2334,75; GGT: 15,78; AP: 1

4 DISKUSSION

Das Hauptziel dieser Studie war zu untersuchen, ob die Aufrechterhaltung einer SNMP über einen Zeitraum von 24 Stunden möglich ist und die Auswirkung dieser auf die Leberqualität von humanen, nicht-allozierbaren Lebern zu dokumentieren.

Die Durchführung der SNMP war in allen 16 Fällen über 24 Stunden erfolgreich. Im Nachhinein zeigen die Darstellungen grob eine erste Richtung, zur Bewertung der Lebern, während der MP, sagen aber noch wenig, über die Entwicklung der Organqualität während der MP aus. Um genauere Aussagen über die Organqualität treffen zu können, müssen wahrscheinlich weitere Entzündungsparameter und die Histologie der Gewebe in die Auswertung miteinbezogen werden. Im Falle von besonders hohen oder besonders niedrigen Werten vor Perfusionsstart, korrelieren die Daten mit einem hohen beziehungsweise niedrigen Wert nach Perfusionsende.

Darüber hinaus lässt sich sagen, dass im Hinblick auf die Ausgangslage jeder einzelnen Leber die Leberenzymlevel in der Lage sind bei der MP qualitativ sehr schlechte, von qualitativ sehr guten Organen zu unterscheiden. Die anderen aufgezeigten Werte, wie das Verhalten der pH-, Glukose- und Laktatwerte oder der Zeitpunkt und die Menge an Natriumbikarbonat, können einzeln zeigen, wie die Qualität der Lebern ist. Allerdings lassen sich untereinander keine Gemeinsamkeiten zwischen den verschiedenen Werten finden und müssen daher bei der Bewertung der einzelnen Organe getrennt betrachtet werden. Die ALT, AST und LDH-Levels verhalten sich während der SNMP meist ähnlich wie die GGT und AP-Levels.

Auch die unterschiedlichen Perfusate (Custodiol[®], Custodiol MP[®]; Belzer MPS[®]) beeinflussen die Qualität des Lebergewebes während der Perfusion aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung, auf unterschiedliche Weise. Die Wirkungen der einzelnen Perfusate führen zu unterschiedlichen Reaktionen im Lebergewebe.

Eine ähnliche Umgebung wie im Körper zu schaffen mit einem pH von 7,36 bis 7,44, ist durch die Verwendung von Perfusionslösungen anstatt Blut nur annähernd möglich, was aber für die SNMP nicht von Nachteil sein muss. Der pH-Wert von Custodiol[®] und Custodiol MP[®] liegt bei Raumtemperatur um 7,0 und nach 24h

SNMP bleiben die Werte in diesem Bereich. Durch die Applikation von Natriumbikarbonat zur Anpassung an physiologische Bedingungen wird auch der Basenüberschuss verändert und es ist schwierig den für uns festgelegten Referenzbereich zu erreichen. Während der MP mit Belzer MPS[®] liegt der pH-Wert bei fast allen Lebern über 7,3. Laut Hersteller hat die Belzer MPS[®] Lösung einen Wert von 7,4, sodass der pH-Wert bei Start der MP mit Belzer MPS[®] annähernd physiologisch ist.

Die Schwankung des pH-Wertes und des Basenüberschusses sowie das applizierte Natriumbikarbonat Volumen kann auf die verwendeten Perfusatlösungen sowie unterschiedliche Qualität der Lebern zurückgeführt werden. Um eine endgültige Aussage treffen zu können, inwieweit der pH-Wert, der Basenüberschuss und das Natriumbikarbonat Volumen aussagekräftige Indikatoren für die Leberqualität sind, wäre es nötig immer dasselbe Perfusat zu verwenden.

AST und ALT bleiben unter Normalbedingungen unter 50 U/l bei Männern und unter 35 U/l bei Frauen. Vergleicht man diese Werte mit den Werten der MP sieht man, dass die Werte in der MP stark erhöht sind. Man erkennt also, dass mit Blick auf die Normwerte im menschlichen Blut auf jeden Fall bei jeder Leber Lebergewebsschäden entstanden sein können. Nachdem die Leberenzyme allerdings schon vor Start der Maschinenperfusion hoch sind, wäre es vielleicht sinnvoller den zeitlichen Verlauf für die Beurteilung heranzuziehen. Die LDH-Konzentrationen verhalten sich bei den MP ähnlich wie die Leberenzyme. Im menschlichen Körper liegt der Normalwert unter 300 U/l. In Tabelle 9 ist zu sehen, dass jeder einzelne Wert weit über diesem Standardwert liegt. Allerdings ist fraglich, ob die klinisch relevanten Normalwerte auf die Konzentration im Perfusat angewendet werden können. Es ist möglich das erhöhte Werte im Rahmen der SNMP kein Problem für die Funktion der Leberzellen darstellen.

Leberenzyme wie ALT, AST und LDH wurden in anderen Studien¹⁰⁹ bereits als essenzielle Indikatoren für Leberschäden beschrieben. In dieser Studie zeigt die langsame Erhöhung der Leberenzyme über 24 Stunden, dass die Gewebequalität

¹⁰⁹ Tim A Berendsen et al., "A simplified subnormothermic machine perfusion system restores ischemically damaged liver grafts in a rat model of orthotopic liver transplantation," accessed September 2020.

über die Zeit abnimmt, beziehungsweise dass bereits vor Start der SNMP bestanden. Dies kann verschiedene Gründe haben: 1. nicht optimale Bedingungen der MP, 2. Qualitätsminderung durch Vorerkrankungen 3. Dauer der MP oder 4. Die deskriptiven Parameter können das Gewebe nicht ausreichend beurteilen.

Die AP liegt bei gesunden Männern zwischen 40 und 130 U/l und bei gesunden Frauen zwischen 55 und 105 U/l. Während der Maschinenperfusionen liegt der AP, außer bei Leber 3 und Leber 4, immer außerhalb des klinischen Referenzbereichs. Die GGT liegt bei Männern unter 60 U/l und bei Frauen unter 40 U/l¹¹⁰. Außer Leber 3 hat keine Leber bei Ende der MP einen erhöhten Wert.

Das steigende Laktat lässt, trotz Bereitstellung von Sauerstoff, anaerobe Glykolyse vermuten. Die freien Sauerstoffmoleküle führen nicht zu einem Shift hin zu aerober Glykolyse. Allerdings steigen die Werte in den meisten Fällen nur langsam, was darauf hindeutet, dass sich der Stoffwechsel ebenfalls nur langsam umstellt. Man könnte weiter die Sauerstoffaufnahme des Gewebes ausrechnen mit dem Unterschied des Sauerstoffpartialdrucks während der Einfuhr und Ausfuhr¹¹¹, um die Funktionsfähigkeit des Lebergewebes weiter zu beurteilen.

In der Studie von Boteon et al.¹¹² wird die Sauerstoffaufnahme im Gewebe aufgezeigt, indem, in Einbeziehung des Lebergewichts und der Menge an Perfusat, die Differenz zwischen der prähepatischer Sauerstoffkonzentration und der posthepatischer Sauerstoffkonzentration ausgerechnet und in kPa angegeben wird. Die Sauerstoffaufnahme des Gewebes zeigt, wie viel aerober Metabolismus im Lebergewebe noch stattfindet und je nach Belieben könnte die Sauerstoffzufuhr dosiert werden. In Bessems et al – Studie wird eine durchschnittliche prähepatische Sauerstoffkonzentration von 700-800 mmHg und eine posthepatische Sauerstoffkonzentration von circa 100mmHg beschrieben¹¹³. In dieser Arbeit wird nur die prähepatische Sauerstoffkonzentration angegeben, daher wäre es von Nöten eine Möglichkeit zu schaffen auch posthepatisch Konzentrationen von verschiedenen Substanzen zu messen.

¹¹⁰ Keikawus Arastéh et al., eds., *Duale Reihe Innere Medizin*, 4th ed. (Georg Thieme Verlag, 2018).

¹¹¹ Yuri L. Boteon et al., "Combined Hypothermic and Normothermic Machine Perfusion Improves Functional Recovery of Extended Criteria Donor Livers," 2018.

¹¹² Ibid.

¹¹³ Maud Bessems et al., "Preservation of steatotic livers: a comparison between cold storage and machine perfusion preservation," *Liver Transplantation* 13, no. 4 (2007).

Des Weiteren lässt die Gallenproduktion vermuten, dass dieser Parameter nicht in direktem Zusammenhang mit den anderen Parametern steht. Dies deutet darauf hin, dass die Gallenproduktion, im Rahmen dieser Studie, nicht aussagekräftig für die Gewebequalität ist. Darüber hinaus ist auch keine Auffälligkeit bezüglich des Zeitpunktes der Gallenproduktion erkennbar.

Die Darstellung des pH-Werts und des Basenüberschusses über 24 Stunden SNMP lassen eine erste Abschätzung des Perfusionserfolges zu. Die Darstellung der Druck und Flusskurven über 24 Stunden, welche durch das Liver Assist[®] Gerät aufgezeichnet werden, ist ein weiterer Parameter, der zur Beurteilung des Perfusionserfolges herangezogen werden kann. Zur detaillierteren Beurteilung dieser Werte ist eine histologische Aufarbeitung der Gefäße sinnvoll, da diese Werte zu einer genaueren Einschätzung der Qualität (Entzündung, Fibrosierung der Gefäßwände-> Zellveränderungen) beitragen können und die Validität verbessern könnten¹¹⁴.

Eine Festlegung auf ein Perfusat würde einen Vergleich sub-normothermen Maschinenperfusionsläufe erleichtern, da die pH- Stabilität und die Notwendigkeit der Glukoseapplikation maßgeblich von den Eigenschaften der Perfusate abhängt.

Um die Gewebequalität noch besser einschätzen zu können, muss das Gewebe in weiteren Studien histologisch untersucht werden und das Perfusat hinsichtlich der Funktion des Lebergewebes getestet werden. Solche Faktoren wären zum Beispiel Interferon-a, IFN-g, IL-10, IL-12/IL-23 p40, IL-1b, IL-4, IL-6, IL-8, der Tumor Nekrose Faktor (TNF) oder Flavinmononukleotid (FMN).¹¹⁵

¹¹⁵ P. Fontes et al., "Liver preservation with machine perfusion and a newly developed cell-free oxygen carrier solution under subnormothermic conditions," *American Journal of Transplantation* 15, no. 2 (2015).

5 LITERATURVERZEICHNIS

- Am Schulte Esch, Jochen, and Bause, Hanswerner. *Anästhesie: Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie ; 232 Tabellen*. 4th ed. Stuttgart: Thieme, 2011. <http://ebooks.thieme.de/9783131190840/1>.
- amboss. "Säure-Basen- Haushalt: Regulation des Säure-Basen-Haushalts in den Organen." 2020. <https://next.amboss.com/de/article/lo0YWS?q=S%C3%A4ure%20basen%20haushalt#Z49684269b5f142564183f0d57b95ec4c>.
- Andreoli, Thomas E., and Cecil, Russell L. *Andreoli and Carpenter's Cecil essentials of medicine*. 8th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier, 2010.
- Arastéh, Keikawus, Hanns-Wolf Baenkler, Christiane Bieber, Roland Brandt, Tushar Thomas Chatterjee, Thorsten Dill, Tilmann Ditting, Martin Duckert, Wolfgang Eich, Sabine Ernst, Ulrich Fischer-Rasokat, Stefan Fischli, Ralf Fleck, Dieter Fritze, Hermann Fießl, Johannes-Martin Hahn, Christian Hamm, Job Harenberg, Jürgen H. Hengstmann, Wolfgang Herzog, Jochen Hinkelbein, Thomas Hofmann, Axel Holstege, Kurt Huck, Jan Kähler, Monika Keller, Won-Keun Kim, Dietrich Klingmüller, Inger Knaevelsrud, Ralf Köster, Karl-Heinz Kuck, Christoph Liebetrau, Bernd Löwe, Nicole Loßnitzer, W. Alexander Mann, Axel Matzdorff, Thomas Müller-Tasch, Christoph A. Nienaber, Christoph Nikendei, Michael Nürnberg, Jürgen Pausch, Michael Petzsch, Michael Pfeifer, Wolfgang Rösch, Nina Sauer, Johannes Schäfer, Helmut Scherbaum, Christoph Scheurich, Brigitte Schlehofer, Michael Schmidt, Henrik Schneider, Mark Schöffauer, Joscha Schork, Andreas Schuchert, Michael Schwab, Hans-Udo Schweikert, Michael Spannagl, Heiko Stern, Hartmut Stocker, Klaus-Henning Usadel, Roland Veelken, Reinhard E. Voll, Peter Wahl, Erik Wißner, Arne Zastrow, Stefan Zeuzem, Reinhard Ziegler, and Stephan Zipfel, eds. *Duale Reihe Innere Medizin*. 4th ed.: Georg Thieme Verlag, 2018.
- Barbas, A. S., Goldaracena, N., Dib, M. J., and Selzner, M. "Ex-vivo liver perfusion for organ preservation: Recent advances in the field." *Transplantation reviews (Orlando, Fla.)* 30, no. 3 (2016): 154–160.
- Benninghoff, Alfred, Detlev Drenckhahn, Jens Waschke, Esther Asan, and Benninghoff-Drenckhahn, eds. *Taschenbuch Anatomie*. München: Elsevier Urban & Fischer, 2011.
- Berzigotti, Annalisa, Ferraioli, Giovanna, Bota, Simona, Gilja, Odd Helge, and Dietrich, Christoph F. "Novel ultrasound-based methods to assess liver disease: The game has just begun." *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 50, no. 2 (2018): 107–112.
- Bessems, Maud, Doorschodt, Benedict M., Kolkert, Joe L. P., Vetelainen, Reeta L., van Vliet, Arlene K., Vreeling, Heleen, van Marle, Jan, and van Gulik, Thomas M. "Preservation of steatotic livers: a comparison between cold storage and machine perfusion preservation." *Liver Transplantation* 13, no. 4 (2007): 497–504.
- Boemke, W., Krebs, M. O., and Rossaint, R. "Blutgasanalyse." *Der Anaesthetist* 53, no. 5 (2004): 471-92; quiz 493-4.
- Bohn, Andrea A., and Morais, Helio Autran de. "A Quick Reference on Chloride." *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 47, no. 2 (2017): 219–222.
- Boteon, Yuri L., Laing, Richard W., Schlegel, Andrea, Wallace, Lorraine, Smith, Amanda, Attard, Joseph, Bhogal, Ricky H., Neil, Desley A. H., Hübscher, Stefan, Perera, M. Thamara P. R., Mirza, Darius F., Afford, Simon C., and Mergental, Hynek. "Combined Hypothermic and Normothermic Machine Perfusion Improves Functional Recovery of Extended Criteria Donor Livers." 2018.

- Bridge to Life. "Belzer MPS, Organkonservierungslösung (UW Machine Perfusion Solution) .".
- Bridge to Life. "Belzer UW® - Cold Storage Solution: Directions for Preparation and Use.".
- Brockmann, Jens, Reddy, Srikanth, Coussios, Constantin, Pigott, David, Guirriero, Dino, Hughes, David, Morovat, Alireza, Roy, Debabrata, Winter, Lucy, and Friend, Peter J. "Normothermic Perfusion." *Annals of surgery* 250, no. 1 (2009): 1–6. <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181a63c10>.
- Bruinsma, Bote G., Avruch, James H., Weeder, Pepijn D., Sridharan, Gautham V., Uygun, Basak E., Karimian, Negin G., Porte, Robert J., Markmann, James F., Yeh, Heidi, and Uygun, Korkut. "Functional human liver preservation and recovery by means of subnormothermic machine perfusion." *Journal of visualized experiments : JoVE*, no. 98 (2015).
- Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen. "Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittels: Custodiol-Perfusionslösung." 1994. https://aspreregister.basg.gv.at/aspreregister/faces/aspreregister.jspx?_afLoop=1710528580510105&_afWindowMode=0&_adf.ctrl-state=b6tc6ht64_4.
- Cobo, José L. E., and del Río Gallegos, Francisco. "Preservación de órganos." *Medicina Intensiva* 33, no. 6 (2009): 282–292.
- Czigany, Zoltan, Lurje, Isabella, Tolba, Rene H., Neumann, Ulf P., Tacke, Frank, and Lurje, Georg. "Machine perfusion for liver transplantation in the era of marginal organs-New kids on the block." *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 39, no. 2 (2019): 228–249.
- Demmy, T. L., Biddle, J. S., Bennett, L. E., Walls, J. T., Schmaltz, R. A., and Curtis, J. J. "Organ preservation solutions in heart transplantation--patterns of usage and related survival." *Transplantation* 63, no. 2 (1997): 262–269.
- Dr.F.Franz Köhler, Frauke W. "Custodiol-MP- Basislösung." (2019).
- Elmer, Andreas, Rohrer, Mara-Lisa, Benden, Christian, Krügel, Nathalie, Beyeler, Franziska, and Immer, Franz F. "Organ donation after circulatory death as compared with organ donation after brain death in Switzerland - an observational study." *Swiss medical weekly* 152 (2022): w30139.
- Eshmuminov, Dilmurodjon, Becker, Dustin, Bautista Borrego, Lucia, Hefti, Max, Schuler, Martin J., Hagedorn, Catherine, Muller, Xavier, Mueller, Matteo, Onder, Christopher, Graf, Rolf, Weber, Achim, Dutkowski, Philipp, Rudolf von Rohr, Philipp, and Clavien, Pierre-Alain. "An integrated perfusion machine preserves injured human livers for 1 week." *Nature biotechnology* 38, no. 2 (2020): 189–198, accessed September 2020.
- Eurotransplant. "Gesamtzahl der Organtransplantationen in Deutschland im Zeitraum von 1963 bis 2019 nach Organen: Gesamtzahl der Organtransplantationen in Deutschland nach Organen bis 2019." (1963-2019): DSO- Jahresbericht 2019, Seite 18.
- Eurotransplant International Foundation. "Liver transplants in All ET, by year, by donor type, by organ combination." 2022. statistics.eurotransplant.org.
- Eurotransplant International Foundation. "Non-heartbeating transplants in 2021, by donor country, by organ combination, by transplant country." 2022. https://statistics.eurotransplant.org/index.php?search_type=&search_organ=liver&search_region=&search_period=2021&search_characteristic=transplants&search_text=&search_collection=
- Eurotransplant International Foundation. "Active liver waiting list (at year-end) in 2021, by country, by organ combination." 2022. statistics.eurotransplant.org, accessed January 2022.

- Fanghänel, Jochen, Pera, Franz, and Anderhuber, Friedrich. *Waldeyer: Anatomie des Menschen*. 17th ed. s.l.: Walter de Gruyter GmbH Co.KG, 2009.
- Farkas, Stefan, Hackl, Christina, and Schlitt, Hans Jürgen. "Overview of the indications and contraindications for liver transplantation." *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 4, no. 5 (2014).
- Flasnoecker, Monika, ed. *Thiemes innere Medizin: TIM ; 848 Tabellen*. Stuttgart, New York: Thieme, 1999.
- Fontes, P., Lopez, R., van der Plaats, A., Vodovotz, Y., Minervini, M., Scott, V., Soltys, K., Shiva, S., Paranjpe, S., Sadowsky, D., Barclay, D., Zamora, R., Stolz, D., Demetris, A., Michalopoulos, G., and Marsh, J. W. "Liver preservation with machine perfusion and a newly developed cell-free oxygen carrier solution under subnormothermic conditions." *American Journal of Transplantation* 15, no. 2 (2015): 381–394.
- Fox, Alyson N., and Brown, Robert S. "Is the patient a candidate for liver transplantation?" *Clinics in liver disease* 16, no. 2 (2012): 435–448.
- Griffin, Sally. "Feline abdominal ultrasonography: what's normal? what's abnormal? The liver." *Journal of feline medicine and surgery* 21, no. 1 (2019): 12–24.
- Guarrera, James V., and Karim, Niaz A. "Liver preservation: is there anything new yet?" *Current Opinion in Organ Transplantation* 13, no. 2 (2008): 148–154.
- Hameed, Ahmer M., Hawthorne, Wayne J., and Pleass, Henry C. "Advances in organ preservation for transplantation." *ANZ journal of surgery* 87, no. 12 (2017): 976–980.
- Holtmann, Henrik, Kreft, Andreas, Wilhelm, Sven Bastian, and Link, Lisa. *Mediscript Kurzlehrbuch Histologie: Mit 17 Tabellen ; [Plus im Web ; mediscript*. 1st ed. München: Elsevier Urban & Fischer, 2013.
- Jing, Lei, Yao, Leeann, Zhao, Michael, Peng, Li-Ping, and Liu, Mingyao. "Organ preservation: from the past to the future." *Acta pharmacologica Sinica* 39, no. 5 (2018): 845–857.
- Lüllmann-Rauch, Renate. *Taschenlehrbuch Histologie*. 2nd ed. Stuttgart: Thieme, 2006. http://bvbr.bib-bvb.de:8991/F?func=service&doc_library=BVB01&doc_number=014949304&line_number=0002&func_code=DB_RECORDS&service_type=MEDIA.
- Maathuis, Mark-Hugo J., Leuvenink, Henri G. D., and Ploeg, Rutger J. "Perspectives in organ preservation." *Transplantation* 83, no. 10 (2007): 1289–1298.
- Maeso-Díaz, Raquel, Ortega-Ribera, Martí, Fernández-Iglesias, Anabel, Hide, Diana, Muñoz, Leticia, Hessheimer, Amelia J., Vila, Sergi, Francés, Rubén, Fondevila, Constantino, Albillos, Agustín, Peralta, Carmen, Bosch, Jaime, Tacke, Frank, Cogger, Victoria C., and Gracia-Sancho, Jordi. "Effects of aging on liver microcirculatory function and sinusoidal phenotype." *Aging cell* 17, no. 6 (2018): e12829.
- McAnulty, Jonathan F. "Hypothermic organ preservation by static storage methods: Current status and a view to the future." *Cryobiology* 60, 3 Suppl (2010): S13-9.
- McCarter, Sam. *Medicine*. Oxford: Oxford University Press, 2010-.
- Meirelles Júnior, Roberto F., Salvalaggio, Paolo, Rezende, Marcelo Bruno de, Evangelista, Andréia Silva, Della Guardia, Bianca, Matiello, Celso Eduardo Lourenço, Neves, Douglas Bastos, Pandullo, Fernando Luis, Felga, Guilherme Eduardo Gonçalves, Alves, Jefferson André da Silva, Curvelo, Lilian Amorim, Diaz, Luiz Gustavo Guedes, Rusi, Marcela Balbo, Viveiros, Marcelo de Melo, Almeida, Marcio Dias de, Pedroso, Pamela Tung, Rocco, Rodrigo Andrey, and Meira Filho, Sérgio

- Paiva. "Liver transplantation: history, outcomes and perspectives." *Einstein (Sao Paulo, Brazil)* 13, no. 1 (2015): 149–152.
- Mertes, P. M., el Abassi, K., Jaboin, Y., Burtin, P., Pinelli, G., Carteaux, J. P., Burlet, C., Boulange, M., and Villemot, J. P. "Changes in hemodynamic and metabolic parameters following induced brain death in the pig." *Transplantation* 58, no. 4 (1994): 414–418.
- Milić, Sandra, Lulić, Davorka, and Štimac, Davor. "Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations." *World journal of gastroenterology* 20, no. 28 (2014): 9330–9337.
- Nasralla, David, Coussios, Constantin C., Mergental, Hynek, Akhtar, M. Zeeshan, Butler, Andrew J., Ceresa, Carlo D. L., Chiocchia, Virginia, Dutton, Susan J., García-Valdecasas, Juan Carlos, Heaton, Nigel, Imber, Charles, Jassem, Wayel, Jochmans, Ina, Karani, John, Knight, Simon R., Kocabayoglu, Peri, Malagò, Massimo, Mirza, Darius, Morris, Peter J., Pallan, Arvind, Paul, Andreas, Pavel, Mihai, Perera, M. Thamara P. R., Pirenne, Jacques, Ravikumar, Reena, Russell, Leslie, Upponi, Sara, Watson, Chris J. E., Weissenbacher, Annemarie, Ploeg, Rutger J., and Friend, Peter J. "A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation." *Nature* 557, no. 7703 (2018): 50–56.
- op den Dries, S., Karimian, N., Sutton, M. E., Westerkamp, A. C., Nijsten, M. W. N., Gouw, A. S. H., Wiersema-Buist, J., Lisman, T., Leuvenink, H. G. D., and Porte, R. J. "Ex vivo Normothermic Machine Perfusion and Viability Testing of Discarded Human Donor Livers." *American Journal of Transplantation* 13, no. 5 (2013): 1327–1335. <http://dx.doi.org/10.1111/ajt.12187>.
- Organ Assist. *LIVER ASSIST- oxygenated perfusion of isolated donor liver; pressure controlled dual perfusion of hepatic artery and portal vein*. organ-assist.nl.
- Ostróžka-Cieślík, Aneta, Dolińska, Barbara, and Ryszka, Florian. "Tips for optimizing organ preservation solutions." *Acta biochimica Polonica* 65, no. 1 (2018): 9–15.
- Petrenko, Alexander, Carnevale, Matias, Somov, Alexander, Osorio, Juliana, Rodríguez, Joaquin, Guibert, Edgardo, Fuller, Barry, and Froghi, Farid. "Organ Preservation into the 2020s: The Era of Dynamic Intervention." *Transfusion medicine and hemotherapy : offzielles Organ der Deutschen Gesellschaft fur Transfusionsmedizin und Immunhamatologie* 46, no. 3 (2019): 151–172.
- "Physiologische Wirkprinzipien vasoaktiver Substanzen." *Anästhesiologie & Intensivmedizin* 2000, no. 41: 562–568.
- Reinhard Walther, and Pschyrembel Redaktion. "Glukoneogenese: Grundlagenfächer der Medizin." *Pschyrembel online* (04.2020).
- Saxena, R., Theise, N. D., and Crawford, J. M. "Microanatomy of the human liver-exploring the hidden interfaces." *Hepatology (Baltimore, Md.)* 30, no. 6 (1999): 1339–1346.
- Schlegel, Andrea, Graf, Rolf, Clavien, Pierre-Alain, and Dutkowski, Philipp. "Hypothermic oxygenated perfusion (HOPE) protects from biliary injury in a rodent model of DCD liver transplantation." *Journal of hepatology* 59, no. 5 (2013): 984–991. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2013.06.022>.
- Schlegel, Andrea, Rougemont, Olivier de, Graf, Rolf, Clavien, Pierre-Alain, and Dutkowski, Philipp. "Protective mechanisms of end-ischemic cold machine perfusion in DCD liver grafts." *Journal of hepatology* 58, no. 2 (2013): 278–286. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.10.004>.
- Schmidt, Robert F., Florian Lang, and Manfred Heckmann, eds. *Physiologie des Menschen: Mit Pathophysiologie : mit Online-Repetitorium*. 31st ed. Berlin: Springer, 2017. <http://www.springer.com/>.

- Schmucker, Douglas L. "Age-related changes in liver structure and function: Implications for disease?" *Experimental gerontology* 40, 8-9 (2005): 650–659.
- Siegenthaler, Walter, ed. *Klinische Pathophysiologie: 213 Tabellen*. 8th ed. Stuttgart, New York: Thieme, 2001.
- STARZL, T. E., MARCHIORO, T. L., VONKAULLA, K. N., HERMANN, G., BRITTAIN, R. S., and WADDELL, W. R. "HOMOTRANSPLANTATION OF THE LIVER IN HUMANS." *Surgery, gynecology & obstetrics* 117 (1963): 659–676.
- Statista. "Häufigste Indikationen bei Neuanmeldungen für eine Lebertransplantation im Rahmen von Eurotransplant im Jahr 2020." *Eurotransplant* (2021).
- Szilágyi, Ágnes L., Mátrai, Péter, Hegyi, Péter, Tuboly, Eszter, Pécz, Daniella, Garami, András, Solymár, Margit, Pétervári, Erika, Balaskó, Márta, Veres, Gábor, Czopf, László, Wobbe, Bastian, Szabó, Dorottya, Wagner, Juliane, and Hartmann, Petra. "Compared efficacy of preservation solutions on the outcome of liver transplantation: Meta-analysis." *World journal of gastroenterology* 24, no. 16 (2018): 1812–1824.
- Tajiri, Kazuto, and Shimizu, Yukihiko. "Liver physiology and liver diseases in the elderly." *World journal of gastroenterology* 19, no. 46 (2013): 8459–8467.
- Tim A Berendsen, Bote G Bruinsma, Jungwoo Lee, Vincent DAndrea, Qiang Liu, Maria-Louisa Izamis, Korkut Uygun, and Martin L Yarmush. "A simplified subnormothermic machine perfusion system restores ischemically damaged liver grafts in a rat model of orthotopic liver transplantation." accessed September 2020.
- Vairetti, M., Ferrigno, A., Rizzo, V., Richelmi, P., Boncompagni, E., Neri, D., Freitas, I., and Cillo, U. "Subnormothermic machine perfusion protects against rat liver preservation injury: a comparative evaluation with conventional cold storage." *Transplantation proceedings* 39, no. 6 (2007): 1765–1767.
- "XXIX. The anatomy and physiology of the liver." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 123 (1833): 711–770.
- Yoshida, Kozue, Nakamura, Shunsuke, Sakamoto, Hiroki, Kondo, Mika, Chouno, Takehiro, Ikegami, Yasuhiro, Shirakigawa, Nana, Mizumoto, Hiroshi, Yamashita, Yo-Ichi, Baba, Hideo, and Ijima, Hiroyuki. "Normothermic machine perfusion system satisfying oxygen demand of liver could maintain liver function more than subnormothermic machine perfusion." *Journal of bioscience and bioengineering* 131, no. 1 (2021): 107–113.
- Yuan, Xiaodong, Theruvath, Ashok J., Ge, Xupeng, Floerchinger, Bernhard, Jurisch, Anke, García-Cardena, Guillermo, and Tullius, Stefan G. "Machine perfusion or cold storage in organ transplantation: indication, mechanisms, and future perspectives." *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 23, no. 6 (2010): 561–570.
- Zakhari, Samir. "Bermuda Triangle for the liver: alcohol, obesity, and viral hepatitis." *Journal of gastroenterology and hepatology* 28 Suppl 1 (2013): 18–25.
- Zhu, Liang, Feng, Shanshan, Wu, Yunhong, Mu, Jingzhou, Jing, Tangtang, Xie, Yan, Li, Yan, Cao, Tingting, and Ma, Tonghui. "Changes to Liver Structure and Energy Metabolism During Cold Storage of Transplanted Liver in Mice." *Experimental and clinical transplantation : official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation* 18, no. 1 (2020): 71–82.