

Aus der Klinik und Poliklinik für Hepatobiliäre Chirurgie
und Viszerale Transplantation,

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Xavier Rogiers)

**Die kritische Hepatektomie im Großtiermodell – Evaluation der
histomorphologischen Veränderungen und der
pathophysiologischen Grundlagen des Posthepatektomie-
Leberversagens**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Anett Müller

aus

Hamburg

Hamburg 2006

Angenommen vom Fachbereich Medizin

Der Universität Hamburg am:

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs

Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende:

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in:

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in:

A Inhaltsverzeichnis

A Inhaltsverzeichnis	2
B Abkürzungsverzeichnis	4
C Abbildungsverzeichnis	5
1. Arbeitshypothesen und Fragestellung	10
2. Einleitung	11
2.1 Leberteilresektionen - Ihre Bedeutung in der Behandlung von primären und sekundären Lebermalignomen	11
2.2 Die kritische Leberteilresektion und die Rolle der Leberregeneration.....	12
2.3 Modelle zur Leberregeneration	13
2.4 Pathophysiologie der kritischen Leberresektion	14
2.5 Ziel der Arbeit	17
3. Material und Methoden	18
3.1 Versuchstiere und Tierhaltung	18
3.2 Gruppeneinteilung	18
3.3 Messprotokolle und Zielparameter	19
3.4 Versuchsablauf und -durchführung	20
3.4.1 Operationsvorbereitung.....	20
3.4.2 Operationsablauf.....	21
3.4.3 Gruppenspezifische Operation	22
3.4.4 Postoperativer Verlauf	25
3.4.5 Zweite operative Sitzung und Tötung der Tiere	26
3.5 Klinische Chemie	27
3.5.1 Leberfunktion	27
3.5.2 Serumenzymaktivität	28
3.5.3 Synthese von Plasmaproteinen und Gerinnungsfaktoren.....	29
3.5.4 Akute-Phase-Proteine.....	29
3.5.5 Messzeitpunkte und Zielparameter	30

3.6 Histologische Analysen	30
3.6.1 Fixierung der Gewebe und Anfertigung der histologischen Schnitte.....	30
3.6.2 Färbetechniken.....	30
3.6.3 Auswertungsmethodik.....	32
3.7 Semidünnschnitte.....	33
3.8 Statistik	33
4. Ergebnisse	35
4.1 Operationsmorbidity und Letalität.....	35
4.2 Klinische Chemie	37
4.2.1 Enzyme des Leberparenchyms (AST, ALT, GLDH, CHE).....	37
4.2.2 Plasmaproteine und Gerinnungsfaktoren (Albumin, Quick, Faktor V)....	41
4.2.3 Akute-Phase-Proteine (CRP, Fibrinogen)	44
4.2.4 Stoffwechsellendprodukte (Bilirubin).....	46
4.3 Histomorphologische Auswertung	47
4.3.1 Verfettung.....	47
4.3.2 Nekrose.....	50
4.3.3 Entzündung.....	52
4.3.4 Mitose.....	55
4.4 Semidünnschnitte.....	56
5. Diskussion	60
5.1 Diskussion der Methodik	60
5.2 Diskussion der Ergebnisse	62
5.3 Ausblick / Rückschlüsse für die Klinik	67
6. Zusammenfassung	69
D Literaturverzeichnis	70
E Danksagung.....	81
F Lebenslauf	82

B Abkürzungsverzeichnis

A.:	Arterie
Abb.:	Abbildung
ALT:	Alanin-Aminotransferase
APR:	Akute-Phase-Reaktion
AST:	Aspartat-Aminotransferase
CCC:	Cholangiozelluläres Karzinom
CHE:	Cholinesterase
CRP:	C-reaktives Protein
CT:	Computertomographie
DNS:	Desoxyribonukleinsäure
EGR-1:	early growth response gene-1
GLDH:	Glutamatdehydrogenase
GOT:	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT:	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HCC:	Hepatozelluläres Karzinom
HE-Färbung:	Haematoxylin-Eosin-Färbung
HWZ:	Halbwertszeit
KG:	Körpergewicht
LDL:	Low density lipoprotein
M:	Mol
NaCl:	Natriumchlorid
PAI-1:	type-1 plasminogen activator inhibitor
PBL:	Pfortaderastligatur
PH:	Partielle Hepatektomie
PRL-1:	phosphatase of regenerating liver-1
RES:	Retikuloendotheliales System
RNS:	Ribonukleinsäure
SO:	Scheinoperation
TIPS:	Transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt
U:	Units
ZVK:	Zentraler Venenkatheter

C Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung einer Schweineleber mit Ligatur des linken Pfortaderhauptastes	22
Abb. 2: Schematische Darstellung einer Schweineleber mit erweiterter Hemihepatektomie links	23
Abb. 3: Schematische Darstellung einer Schweineleber mit erweiterter Hemihepatektomie links und TIPS	24
Abb. 4: Schematische Darstellung einer Schweineleber der Kontrollgruppe.....	25
Abb. 5: Graphische Darstellung der AST-Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).....	37
Abb. 6: Graphische Darstellung der ALT-Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).)	38
Abb. 7: Graphische Darstellung der GLDH– Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).....	39
Abb. 8: Graphische Darstellung der CHE–Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).....	40
Abb. 9: Graphische Darstellung der Albumin–Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).....	41

Abb. 10: Graphische Darstellung des Quick-Wertes im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).	42
Abb. 11: Graphische Darstellung des Faktors V im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).	43
Abb. 12: Graphische Darstellung der Konzentration des C-reaktiven Proteins im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).	44
Abb. 13: Graphische Darstellung der Fibrinogen-Konzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).	45
Abb. 14: Graphische Darstellung der Serumkonzentration des Gesamt-Bilirubins im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).	46
Abb. 15: Graphische Darstellung der Verfettung (in %) nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden.	47
Abb. 16: Links und Rechts: Mikroskopisches Bild einer normalen Schweineleber zum Zeitpunkt 0 Stunden. (Links: 10 fache Vergrößerung; Rechts: 40 fache Vergrößerung)	48
Abb. 17: Mikroskopisches Bild einer leicht verfetteten Schweineleber; PBL-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (60 fache Vergrößerung)	49

Abb. 18: Links: Mikroskopisches Bild einer stark verfetteten Schweineleber; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (40 fache Vergrößerung; HE-Fbg.) Rechts: Mikroskopisches Bild einer stark verfetteten Schweineleber; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)	49
Abb. 19: Graphische Darstellung der Nekrosen (in %) nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden.	50
Abb. 20: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit einzelner Nekrose; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (40 fache Vergrößerung).....	51
Abb. 21: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit vereinzelt Nekrosen und Entzündungszellen ; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (20 fache Vergrößerung; HE-Fbg.) Rechts: Stärkere Vergrößerung. (120 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)	51
Abb. 22: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit zwei größeren Nekrosen ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunde. (20 fache Vergrößerung) Rechts: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit massiven Nekrosen und Blutstau ; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunde. (20 fache Vergrößerung)	52
Abb. 23: Graphische Darstellung der Entzündungsreaktion (Histo-Score) nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden.	53
Abb. 24: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit Regionen vermehrter Entzündungszellen; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (10 fache Vergrößerung; HE-Fbg.) Rechts: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit kleinem Entzündungsherd; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (40 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)	54

Abb. 25: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit Einzelzellnekrosen und mehreren Entzündungszellen; PBL-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunde. (60 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)	
Rechts: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit massiven Einblutungen, Nekrosen und Entzündungsreaktion; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunde. (20 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)	54
Abb. 26: Graphische Darstellung der Mitosen nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden.	55
Abb. 27: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit zwei Mitosen; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)	
Rechts: stärkere Vergrößerung (150 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)	56
Abb. 28: Links: Mikroskopisches Bild einer normalen Schweineleber; SO-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)	
Rechts: normale Schweineleber ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 0 Stunden (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)	56
Abb. 29: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunden. (40 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)	
Rechts: Schweineleber mit unterschiedlich farbigen Hepatozyten ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)	57
Abb. 30: Links: leichte Verfettung im Randbereich der Hepatozyten; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)	
Rechts: mittelgradige Verfettung der Hepatozyten und Ito-Zellen mit großen Fettvakuolen; PBL-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (120 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)	58

Abb. 31: Links: starke Verfettung besonders der hellen Hepatozyten ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)
Rechts: massive Verfettung der Hepatozyten ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)..... 58

Abb. 32: Links: Abflussstörung mit Gallestau und Verfettung ; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (120 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)
Rechts: Blutstau, Gallestau und Verfettung ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (60 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.) 59

Abb. 33: Links: Blutstau und degenerierende Hepatozyten ; PBL-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)
Rechts: Einzelzellnekrose mit Entzündungsreaktion ; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (120 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)..... 59

1. Arbeitshypothesen und Fragestellung

Die Leberresektion ist nach wie vor die beste Behandlungsoption bei Lebermalignomen. Eine erweiterte Leberresektion, bei der mehr als ein anatomischer Leberlappen entfernt wird, beinhaltet jedoch das Risiko des postoperativen Leberversagens. Die pathophysiologische Genese dieses postoperativen Leberversagens ist Gegenstand dieser Arbeit. Ziel ist es, ein dem Menschen ähnelndes Großtiermodell zu entwickeln, an dem eine erweiterte Leberteilresektion durchgeführt werden kann und an dem mögliche Methoden zur Beeinflussung der Pathophysiologie nach erweiterter Leberteilresektion untersucht werden kann. Hierzu wurden an Minipigs Leberresektionen mit einem Ausmaß von drei Viertel der Lebermasse vorgenommen. Zusätzlich wurden als Vergleichsmodelle Pfortaderastligaturen und Scheinoperationen durchgeführt. Zur Klärung der Hypothese, ob möglicherweise eine portale Hyperperfusion ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung des Posthepatektomie-Leberversagens darstellt, wurde eine portale Dekompression mittels transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS) vorgenommen.

Im Einzelnen wurden dabei die folgenden Fragestellungen bearbeitet:

- Führt eine 75 %ige Leberteilresektion beim Minipig zum Posthepatektomie-Leberversagen ?
- Durch welche laborchemischen und histologischen Veränderungen ist das Posthepatektomie-Leberversagen charakterisiert?
- Findet im Rahmen des Posthepatektomie-Leberversagens noch eine Leberregeneration statt?
- Gibt es einen Unterschied in der Leberregeneration im Vergleich von 75 %iger Leberresektion zu 75 %iger Pfortaderastligatur?
- Gibt es ein histomorphologisches Korrelat für das Hyperperfusionssyndrom?
- Führt die portale Dekompression mittels TIPS zu einer veränderten Regeneration oder zu einer Abnahme der histomorphologisch nachweisbaren Schädigung nach 75 %iger Leberteilresektion?

2. Einleitung

2.1 Leberteilresektionen - Ihre Bedeutung in der Behandlung von primären und sekundären Lebermalignomen

Primäre und sekundäre Lebertumoren sind nach wie vor lediglich durch die chirurgische Resektion kurativ zu therapieren (Hanazaki 2002; Ohtsuka2003; Jarnagin 2001; Bentrem 2005; Ji 2004; Kato 2003). Primäre Lebertumoren wie das hepatozelluläre Karzinom (HCC) oder das cholangiozelluläre Karzinom (CCC) treten weltweit mit einer Inzidenz von ca 2,4 pro 100000 (HCC) auf (Kim 2005; Lai 2005; Hasegawa 2005; El-Serg 2001; El-Serg 1999;Poon 2002; Nair 2002). Das HCC entsteht am häufigsten auf dem Boden einer vorbestehenden Leberfibrose oder Leberzirrhose. Auf Grund der besonders in den Ländern der dritten Welt verbreiteten Virushepatitis B und C hat das hepatozelluläre Karzinom weltweit eine große Bedeutung. In Europa und den USA stellen die Lebermetastasen insbesondere des kolorektalen Karzinoms die häufigste Indikation zur Leberresektion dar (Yasui 2005). Das kolorektale Karzinom wird mit einer Inzidenz von 46 pro 100000 beobachtet (Gupta 2005). Die Metastasierung in die Leber spielt dabei eine entscheidende Rolle für die Mortalität dieser Erkrankung.

Die Techniken der resezierenden Leberchirurgie haben in den letzten zwanzig Jahren bedeutsame Innovationen erfahren. So ist durch blutarme Parenchydissektionstechniken die Limitierung durch den Blutverlust bei Leberresektionen in den Hintergrund getreten. Im Vordergrund stehen hingegen die Probleme der anatomischen Lokalisation der zu resezierenden Tumoren und die Funktion des Organs. In bis zu 40 % der Fälle sind bei Metastasen des kolorektalen Karzinoms so genannte erweiterte Leberteilresektionen erforderlich, das heißt die chirurgische Entfernung von mehr als einem anatomischen Lappen wie typischerweise die erweiterte Hemihepatektomie rechts. Eine solche Resektion, die bis an die kritische Grenze von 70 – 75 % des Lebervolumens heranreicht, ist mit einer signifikant höheren Mortalität behaftet als ein geringgradigeres Resektionsausmaß (Yamanaka 1984; Okamoto 1984; Mann 2001; Gruttadauria 2005). Im Falle von vorgeschädigten Organen, wie beispielsweise nach Chemotherapie, bei Diabetikern oder bei Fibroselebern ist dabei die kritische Grenze von 25% Leberrestvolumen zu klein (Chijiwa 1994; Fujii 2003; Nagasue 1987). Hier empfehlen verschiedene Autoren ein minimales Leberrestvolumen von 40 %.

Bei den hepatozellulären Karzinomen liegt in den meisten Fällen eine Leberparenchymerkrankung wie beispielsweise eine Virushepatitis, eine primär biliäre Zirrhose, ein Morbus Wilson oder eine Hämochomatose zugrunde mit konsekutiver Funktionseinschränkung der Leber, so dass auch hier die eingeschränkte Leberfunktion die Möglichkeiten der resezierenden Leberchirurgie zur Therapie dieser Tumoren limitiert.

Eine zu ausgedehnte Leberteilresektion, die eine ungenügende Menge an funktionellem Restparenchym zur Verfügung lässt, manifestiert sich als so genanntes Posthepatektomie- Leberversagen. Klinisch ist diese lebensbedrohliche Situation durch einen Ausfall von lebensnotwendigen Leberfunktionen charakterisiert wie Ausfall der Blutgerinnung, Enzephalopathie, Hypalbuminämie, sowie Sepsis (Tucker 2005; Nagino 1995). Die genauen pathophysiologischen Ursachen, die zur Entstehung des Posthepatektomie-Leberversagens führen, sind gegenwärtig intensiv beforscht, jedoch bisher nur unzureichend verstanden. Die Kenntnis der pathophysiologischen Zusammenhänge könnte eine weitere Verbesserung der postoperativen Ergebnisse und eine Ausweitung der Indikation bedeuten.

2.2 Die kritische Leberteilresektion und die Rolle der Leberregeneration

Es ist gegenwärtig etabliert, dass Leberteilresektionen, die über ein bestimmtes Maß hinaus zu einer Volumenverkleinerung der Leber führen, mit einem hohen Risiko behaftet sind. Leberresektionen, bei denen nur der linkslaterale Anteil (Segmente 2/3) verbleibt (=erweiterte Hemihepatektomie rechts), zählen typischerweise hierzu. Klinische Erfahrungen sowohl aus Leberresektionen sowie aus *Small-for-Size*-Lebertransplantationen haben zur Etablierung von mathematischen Formeln geführt, mit denen das minimale notwendige verbleibende Restlebergewebe nach einer Resektion in Gewichtseinheiten ermittelt werden kann.(Urata 1995; Harada 2004; Makisalo 1996; Vauthey 2002; Yoshizumi 2003). Die Berechnung des prospektiven Restlebervolumens ist heute dank der computerassistierten CT-Volumetrie einfach und schnell durchzuführen (Okamoto 1984; Frericks 2004; Lemke 2003; Hiroshige 2003; Bogetti 2001). Aufgrund der teils erheblichen Inhomogenität des Patientenguts im Hinblick auf Vorerkrankungen, etwaige Leberparenchymveränderungen wie Steatosis hepatis oder Fibrose, vorherige Chemotherapien und anatomische

Variabilität, kann die Vorbereitung einer Leberresektionen nur individualisiert unter Berücksichtigung der oben genannten Besonderheiten erfolgen. Die Abschätzung des Risikos einer erweiterten Hemihepatektomie ist somit auch unter Berücksichtigung der präoperativen Volumenberechnung nicht pauschalisierbar.

Die Frage, wodurch und in wie weit das Ausmaß einer Leberteilresektion limitiert wird, lässt sich für die klinische Situation anhand der vorhandenen Literatur nur schwer klären. Diese klinischen Daten erlauben keine generelle Aussage hinsichtlich der Frage, wann eine Leberresektion tatsächlich als kritisch einzustufen ist. Naturgemäß ist eine feste Definition beim Menschen aus ethischen Gründen nie etabliert worden.

Nach ausgedehnten Leberteilresektionen gefährdet die Kombination aus reduzierter Lebermasse und eine Änderung der Leberfunktionsleistung die Fähigkeit der Leber, ihre organspezifischen Funktionen zu erfüllen, was letztlich zum letalen Leberversagen nach Resektionen führen kann. Die zugrunde liegenden pathophysiologischen Zusammenhänge sind derzeit nur unzureichend erforscht. Tierexperimentell gewonnene Erkenntnisse konnten einen Zusammenhang zeigen zwischen dem Ausmaß der Resektion und der Letalität (Tygstrup 2002; Panis 1998; Panis 1997; Court 2004). Als Ursache für die Funktionsminderung der Restleber werden mehrere Mechanismen diskutiert.

2.3 Modelle zur Leberregeneration

Anhand von Tiermodellen konnte gezeigt werden, dass die Leber ein außerordentliches Potential zur Regeneration besitzt. Entfernt man beispielsweise im Kleintier wie bei der Ratte zwei Drittel der Leber, so wird dieser Parenchymverlust durch schnelle Regeneration innerhalb von ein bis zwei Wochen kompensiert (Fausto 1995; Fausto 2000; Gertsch 1997; Zimmermann 2004; Topaloglu 2005). Dabei ist hervorzuheben, dass das Ausmaß der Regeneration gesteuert stattfindet und die Ausgangslebermasse nicht überschritten wird. Die Stärke der regenerativen Antwort, das heißt der prozentuale Anteil der proliferierenden Zellen, korreliert dabei mit dem Ausmaß des Parenchymverlustes. So konnte gezeigt werden, dass Ratten, bei denen eine 30% oder 70%ige Leberresektion durchgeführt worden ist, in der verbliebenen Restleber einen geringeren Anteil an proliferierenden Zellen aufwiesen als Ratten, bei denen 90% der Leber entfernt wurde (Sakaguchi 2000). Vergleichbare Daten

wurden in Großtieren wie dem Hund oder Schwein gewonnen (Kahn 1988). Auch hier findet eine kompensatorische Regeneration statt, die jedoch im Vergleich zum Kleintier deutlich langsamer abläuft. Anhand von CT-gesteuerten Volumetriemessungen von Leberlebendspendern, denen der rechte Leberlappen zur Transplantation entnommen wurde, konnte gezeigt werden, dass sich eine kompensatorische Regeneration innerhalb von Monaten abspielt. (Yokoi 2005). Diese oben genannten experimentellen oder klinischen Erkenntnisse zeigen, dass das Ausmaß der kompensatorischen Regeneration nach Leberteilresektion durch den Parenchymverlust determiniert wird. Die genauen zugrunde liegenden Steuermechanismen sind in ihrem Zusammenspiel noch nicht vollständig verstanden. Ein weiteres klinisch bedeutsames Modell zur Leberregeneration ist das Modell der Pfortaderastligatur. Dies beinhaltet die Ausschaltung eines definierten Leberabschnittes von der portalen Blutzufuhr, welches zur Schrumpfung des portal deprivierten Lappens und gleichzeitiger Regeneration des nicht okkludierten Lappens führt. Bei der 70% igen Pfortaderastligatur der Ratte beobachtet man beispielsweise eine Reduktion der Lebermasse im okkludierten Areal auf ein Viertel ihres ursprünglichen Ausgangsgewichtes und eine entsprechende Regeneration des nicht okkludierten Areals, wobei sich diese Volumenverschiebung innerhalb von zwei Wochen abspielt (Mueller 2002; Mueller 2003). Analog wird das Modell der Pfortaderokklusion in der Klinik verwendet zur Vorbereitung ausgedehnter Leberteilresektionen. Seit Anfang der neunziger Jahre wird die präoperative Pfortaderembolisation zur Vorbereitung von erweiterten Hemihepatektomien erfolgreich weltweit immer mehr eingesetzt. Als alternative Methode in der Klinik hat die operative Pfortaderligatur Anwendung erfahren (Bröring 2001). Ähnlich wie bei der kompensatorischen Regeneration nach Leberteilresektion im Tier und im Menschen zeigt auch das Modell der Pfortaderokklusion, dass das Lebervolumen und das Ausmaß der Regeneration fein reguliert ist (Duncan 1999). Die genauen physiologischen Mechanismen, die diese Feinsteuerung vornehmen, sind jedoch noch nicht aufgedeckt.

2.4 Pathophysiologie der kritischen Leberresektion

Als physiologische Triggermechanismen zur Leberregeneration existieren eine Reihe unterschiedlicher Hypothesen, die jeweils durch experimentelle Daten belegt sind.

Aufgrund der oben genannten Tendenz zum Ausgleich verloren gegangener Lebermasse durch kompensatorische Regeneration muss davon ausgegangen werden, dass die regenerative Antwort durch einen Funktionsverlust durch untergegangene oder resezierte Lebermasse determiniert wird. Dieses Konzept würde demnach beinhalten, dass der Restleber nach Leberteilresektion gewissermaßen vom Organismus Signale zugespielt werden, wonach eine vermehrte Proliferation und Volumenvergrößerung des Leberparenchyms erforderlich ist (Craig 2004). Als Mediatoren hierzu kommen Hormone, Wachstumsfaktoren und Metabolite in Betracht. Anhand zahlreicher in vivo und in vitro Versuche konnten eine Reihe von Substanzen als promotogene Faktoren für Hepatozyten identifiziert werden, wie zum Beispiel der *Hepatocyte growth faktor*, Tumornekrosefaktor alpha, Insulin, Glukagon, Kortikosteroide und weitere (Fausto 1995). Letztlich ist jedoch unter den bekannten leberregenerationsinduzierenden Faktoren kein universeller Faktor beschrieben worden, unter dessen Einwirkung die Leber nach Resektion regeneriert und der sich dann nach Abschluss der Regeneration abschaltet und damit das Stoppsignal zur Leberregeneration setzt. Somit ist von einem insgesamt sehr komplexen Interagieren der multiplen fördernden und hemmenden Faktoren auszugehen.

Die zweite grundlegende Hypothese zur Leberregeneration beinhaltet, dass die Leberregeneration durch hämodynamische Faktoren getriggert wird. Es konnte gezeigt werden, dass es nach Volumenverkleinerung oder auch nach Pfortaderligatur zu einer portalen Hyperperfusion der residuellen Leber bzw. des nicht okkludierten Leberareals kommt (Eguchi 2003; Kahn 1984; Niiya 1999). Hierbei ist denkbar, dass hämodynamisch bedingte Druck- und Scherkräfte bestimmte Signalkaskaden in den zellulären Elementen der Leber freisetzen und somit einen Trigger zur Leberregeneration setzen (Schoen 2001; Kawai 2002). Anhand eines Vergleichsmodells zwischen partieller Hepatektomie und Pfortaderligatur der Ratte konnte gezeigt werden, dass die portale Hyperperfusion selektiv zur Induktion sogenannter *Immediately-early-genes* wie beispielsweise *Early growth response gene-1* im portal hyperperfundierten Areal führt, welche wiederum als *priming* Mechanismen zur späteren Leberregeneration angesehen werden kann (Mueller 2002). Insgesamt lässt sich aus der vorhandenen Datenlage zu den Triggermechanismen der Leberregeneration postulieren, dass beide Mechanismen,

also der Parenchymverlust und portale hämodynamische Faktoren, eine Rolle spielen.

Ebenso wie die Mechanismen, welche die Leberregeneration triggern, noch nicht verstanden sind, sind die pathophysiologischen Zusammenhänge, die zum Posthepatektomie-Leberversagen führen, unklar. Führt man bei Ratten eine kritische Leberresektion, das heißt in diesem Fall die Entfernung von 95% der Leber durch, so findet man auch hier eine regenerative Antwort sowie ein molekulares Priming in der verbliebenen Restleber, wobei jedoch letztlich die Mortalität erhöht ist (Koyama 2003). In einem Vergleichsmodell zwischen 70% und 90% Hepatektomie der Ratte konnte dabei gezeigt werden, dass die molekulare Initiierung der Regeneration nach 90% Hepatektomie verzögert eintritt, jedoch die DNS Synthese Phase verlängert war (Zieve 1985). Es ist dabei unklar, ob die verminderte Syntheseleistung der insgesamt für den Organismus zu kleinen Leber ursächlich ist, oder ob eine relativ zu kleine Restleber lediglich zu wenig Funktion für den Organismus aufbringt, oder ob sie weiterhin auf Grund ihrer vermehrten Beanspruchung geschädigt wird.

Es gibt eine ganze Reihe von experimentellen Studien, die eine Schädigung der zu kleinen Restleber durch hämodynamische Kräfte nahe legen und zur Postulierung eines portalen Hyperperfusionssyndroms führten. Dies beinhaltet eine übermäßige portale Perfusion der relativ zu kleinen Restleber mit Aufweitung der Sinusoide (Wack 2001; Gertsch 1997).

Aus der Klinik ist das *small-for-size* Syndrom bekannt, welches eine relativ zu kleine Leber nach Lebertransplantation bedeutet, das sich genauso wie das Posthepatektomie-Leberversagen manifestiert (Tucker 2005). Auch hier sind die pathophysiologischen Ursachen unklar, diskutiert wird jedoch ebenfalls eine hämodynamische Überbeanspruchung oder eine funktionelle Überbeanspruchung des relativ zu kleinen Organs (Hickman 1995; Eguchi 2003; Sugimoto 2004). Für die Klinik ist die genauere Erforschung des *small-for-size* Syndroms bzw. des portalen Hyperperfusionssyndroms besonders bedeutsam, da hierüber letztlich Mechanismen bzw. Strategien eingeführt werden könnten, die die Resektabilität von Lebertumoren verbessern könnten und das Posthepatektomie-Leberversagen kontrollierbarer machen könnten. Eine Strategie, die hierauf abzielt, ist die portale Dekompression im Rahmen von kritischen Leberresektionen. In experimentellen Studien von Fukuchi 2000 und Koyama 2003 konnte gezeigt werden, dass die gleichzeitige Anlage eines portokavalen Shunts bei erweiterten Leberresektionen das Überleben verbesserte.

2.5 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, zum Verständnis der Pathophysiologie des Posthepatektomie-Leberversagens nach kritischer Leberresektion beizutragen. Hierzu wurde ein Minipig-Modell verwendet. Die Minipigs wurden einer Resektion von 75 % der Lebermasse zugeführt und dann nach drei Tagen kontrolliert getötet. Als wesentliche Zielparameter dienten laborchemische Leberfunktions- und Schädigungsparameter sowie morphologische Veränderungen in der Leber. Die Minipigs, welche einer Leberresektion unterzogen wurden, wurden mit Minipigs verglichen, welche einer Scheinoperation unterzogen wurden, zum Ausschluss des Einflusses des operativen Traumas. In einer weiteren Versuchsgruppe wurde eine 75 %ige Pfortaderligatur durchgeführt. In dieser Versuchsgruppe konnte der individuelle Einfluss der veränderten Pfortaderperfusion ohne Parenchymverlust simuliert werden. In einer weiteren Versuchsgruppe wurde zusätzlich zur 75 %igen Leberresektion ein transjugulärer intahepatischer portosystemischer Shunt (TIPS) implantiert, der eine portale Dekompression hervorrufen sollte. Dieses diente dazu herauszufinden, ob die portale Hyperperfusion einen eigenständigen Faktor bei der Entstehung des Posthepatektomie-Leberversagens darstellt und ob die portale Dekompression den postoperativen Verlauf positiv beeinflussen kann.

3. Material und Methoden

3.1 Versuchstiere und Tierhaltung

Insgesamt wurden 52 vom Amt für Gesundheit und Veterinärwesen der Freien und Hansestadt Hamburg genehmigte Versuchstiere (Genehmigungsnummer 32/01) einer tierexperimentellen Studie unterzogen.

Zur Durchführung des experimentellen Teils der Studie wurden Schweine der Rasse „Göttinger Minipig“ verwendet. Die Tiere wurden ausschließlich zur tierexperimentellen Verwendung gezüchtet und aus dem Zuchtbetrieb Ellegaard (Dänemark) bezogen. Bei Lieferung waren die Tiere ca. 1 Jahr alt, das Gewicht betrug zwischen 22 und 26 kg.

3.2 Gruppeneinteilung

Die Versuchstiere wurden in vier verschiedene Gruppen eingeteilt, die Zuweisung in die einzelnen Gruppen erfolgte dabei randomisiert. Zur besseren Übersicht wurden folgende Gruppenbezeichnungen gewählt:

- Pfortaderastligatur (PBL) n= 11
- Leberresektion (PH) n= 13
- Leberresektion + TIPS (TIPS) n= 19
- Scheinoperation (SO) n= 9

Die Gruppenstärken ergaben sich wie folgt:

Bei 11 Tieren wurde eine Pfortaderastligatur links mit 70%iger segmentaler Okklusion (linkslaterales, linksmediales und rechtsmediales Segment) durchgeführt. Bei 13 Tieren wurde eine 75%ige Hepatektomie durch Resektion des linkslateralen, linksmedialen und rechtsmedialen Leberlappens vorgenommen. Bei 19 Tieren wurde als Therapieversuch zur Verbesserung der Leberfunktion nach kritischer Resektion eine gleichzeitige portale Dekompression mittels transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS) vorgenommen. Bei 9 Tieren wurde eine Scheinoperation durchgeführt.

3.3 Messprotokolle und Zielparameter

Die Studie umfasst die Operation von insgesamt 52 Tieren, die jeweils im Abstand von drei Tagen zweimal operiert wurden. Bei der ersten operativen Sitzung erfolgte die gruppenspezifische Operation sowie ein gruppenübergreifendes Messprozedere. Die zweite operative Sitzung erfolgte nach 72 Stunden und beinhaltete das gleiche Messprozedere, Tötung des Tieres und Gewebeprobenentnahmen.

Die intraoperativen Messungen wurden zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden durchgeführt. Vor Beginn der ersten chirurgischen Maßnahme wurden jeweils die Ausgangswerte ermittelt und mit der Bezeichnung „0 Stunden“ versehen. Eine Stunde nach Abschluss der jeweiligen chirurgischen Maßnahme wurden erneut Proben entnommen und Messungen durchgeführt. Die nächste Probenentnahme erfolgte 72 Stunden nach dem primären Eingriff in einer zweiten operativen Sitzung. Dieses war außerdem der Endpunkt des Versuches. Die Entnahme von Blutproben geschah außerdem noch jeweils 6, 12, 24 und 48 Stunden nach Durchführung der operativen Maßnahme.

Zielparameter waren Überleben, Restlebertolumina, laborchemische Leberfunktions- und Schädigungsparameter, sowie histologische Marker wie die Mitoserate, Verfettung und Nekrosen.

Vor Beginn der ersten operativen Sitzung wurden Alter, Geschlecht und Gewicht des Versuchstieres festgestellt und notiert. Außerdem wurden die Ausgangswerte („0 h“) der Leber- und Milzgröße bestimmt, Blutentnahmen aus peripherer Vene, Pfortader und Lebervene durchgeführt, Gewebeproben aus dem linkslateralen und rechtslateralen Lebersegmenten entnommen, Pfortaderdruckmessung sowie eine Duplex-Ultraschalluntersuchung von Leber und Milz vorgenommen.

Zum Zeitpunkt 1h wurden identische Messuntersuchungen, Blut- und Gewebeentnahmen durchgeführt wie zum Zeitpunkt 0h. Außerdem wurde das Gewicht des Leberresektates (in der Resektions- und TIPS-Gruppe) ermittelt. Die Vitalparameter wurden kontinuierlich über die gesamte Operationsdauer mit Hilfe eines Monitoring Systems, bestehend aus einem Monitor (Datex Ohmeda AS 3®), Druckwandler (Logi-Cal®, Medex Medical) und einem Monitoring Set (Medex-Medical®), aufgezeichnet.

Zu den Zeitpunkten 6, 12, 24 und 48 Stunden wurden Venenblutentnahmen durchgeführt, sowie das Befinden des Tieres in einem dafür erstellten Protokoll festgehalten.

Zum Zeitpunkt 72 Stunden wurden erneut Leber- und Milzgröße ermittelt, Blutentnahmen vorgenommen, Gewebeproben aus den rechts- und linkslateralen Lebersegmenten entnommen, die Pfortaderdruckmessung sowie Ultraschalluntersuchungen an Leber und Milz durchgeführt. Nach Tötung des Tieres wurde die Leber bzw. Restleber entnommen und das Gewicht ermittelt. Des Weiteren wurden Gewebeproben aus Lunge, Herz, Niere, Dünndarm, Pankreas, Milz und Lymphknoten entnommen und für weitere Analysen asserviert.

3.4 Versuchsablauf und -durchführung

3.4.1 Operationsvorbereitung

Die Prämedikation erfolgte über die intramuskuläre Applikation von Stresnil (0,1 ml/kg KG; Jansen-Cilag GmbH, Neuss), Ketanest 5% (0,5 ml/kg KG; Atarost GmbH, Twistringen) und Dormicum (0,1 ml/kg KG; Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen). Nach Injektion von 5 ml Disoprivan 1% (30-50 mg Bolusdosis; 15 mg/kg KG /h Erhaltungsdosis; Zeneca GmbH, Plankstadt) erfolgte die orale Intubation mit Endotrachealtuben der Größe 5,5 (Mallinckrodt Medical, Cornamaddy Athlone, Co. Westmeath, Ireland). Diese wurden nach Platzierung mit Pflasterstreifen fixiert und an das Beatmungsgerät (Modell „Bennett“ MA-1B, Hoyer Bremen) angeschlossen. Die Beatmungsfrequenz lag zwischen 12 und 15 Hüben/min. und die Hubvolumina zwischen 400 und 500 ml/Hub.

Als Muskelrelaxans wurde repetitiv Pancuronium (0,1 mg/kg KG; CuraMed Pharma GmbH, Karlsruhe) verabreicht. Die Analgesie wurde mit Fentanyl (0,3- 0,5mg Bolusdosis; Erhaltungsdosis 0,010 mg/kg KG /h; Janssen-Cilag GmbH, Neuss) durchgeführt.

Zur Überwachung der pulmonalen Ventilation und regelrechten Oxygenierung der Versuchstiere wurde die kapilläre O₂- Sättigung pulsoximetrisch bestimmt und das expiratorische CO₂ gemessen (AS, Datex-Ohmeda GmbH, Helsinki, Finnland). Zur Überwachung der Herzfunktion wurde die Herztätigkeit elektrokardiographisch (V.I.-III.) kontrolliert. (AS, Datex-Ohmeda GmbH, Helsinki, Finnland). Die

Überwachung der genannten Messgrößen erfolgte per *continuitatem* mit einem Narkosemonitor (AS ,Datex-Ohmeda GmbH, Helsinki, Finnland). Zur Aufzeichnung und Speicherung der Vitalparameter wurden standardisierte Narkoseprotokolle verwendet.

Die kontinuierliche invasive Messung des Blutdruckes erfolgte über einen in die Leistenarterie offen platzierten Katheter (Seldinger-Arterienpunktions-Set 18G-10 cm, Vygon®). Für die Messung des Zentralvenendruckes und die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte eine offene ZVK-Anlage (Cava-Katheter; Certo Cavafix®, 45 cm Braun) in die rechte Vena jugularis interna.

Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte mittels Disoprivan 1% (10-20 ml/h als Dauermedikation über ein Perfusorsystem), wobei Fentanyl eine ausreichende intraoperative Analgesie gewährte. Bei Bedarf, in der Regel alle 30 Minuten, erfolgte die erneute Injektion von 5 mg Pancuroniumbromid über die Venenverweilkanüle zur Gewährleistung der Relaxation.

3.4.2 Operationsablauf

Für die Darstellung des operativen Situs wurde der Oberbauch sternförmig eröffnet. Vor jeder gruppenspezifischen Operation erfolgte standardisiert das Mobilisieren der Leber, das Aufsuchen des Leberhilus und die Darstellung der Pfortader. Die portale Druckmessung sowie die Pfortaderblutentnahme erfolgten über eine Venenverweilkanüle "blau" (Becton Dickinson AG, Basel, Schweiz), die hepatoportal in die Pfortader gelegt wurde. Anschließend wurde diese über eine mit NaCl 0,9% gespülte Perfusorleitung (Original-Perfusorleitung-PE, Braun) mit dem Monitoring-Set verbunden.

Danach wurde aus dem linkslateralen und rechtslateralen Lebersegment eine ca. 2x2 cm große Parenchymprobe entnommen. Die entstandene offene Parenchymfläche wurde mittels Diathermie oder durch selektive Umstechung mit 3/0 Prolene (Ethicon GmbH, Norderstedt) verschlossen. Die Parenchymproben wurden sofort auf verschiedene Weisen fixiert und für die spätere Untersuchung asserviert.

3.4.3 Gruppenspezifische Operation:

Pfortaderastligatur (PBL)

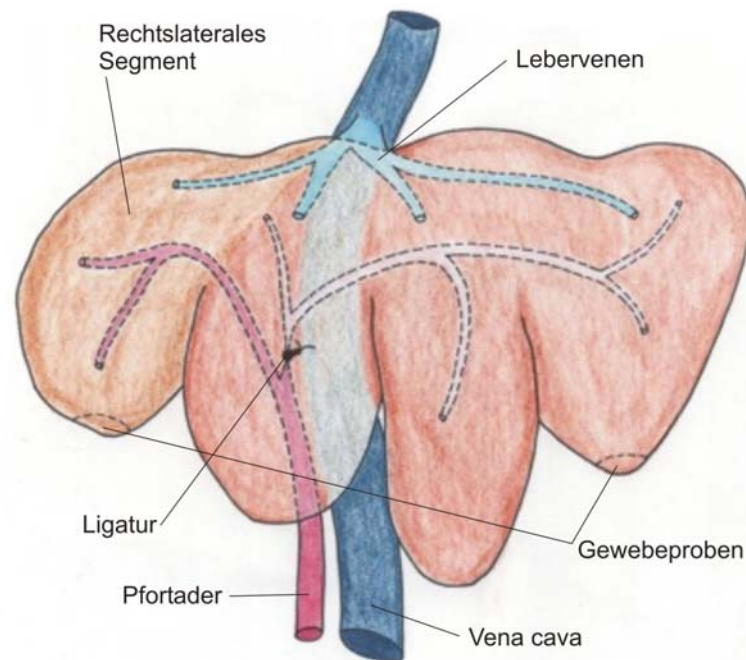


Abb. 1: Schematische Darstellung einer Schweineleber mit Ligatur des linken Pfortaderhauptastes

In der PBL-Gruppe wurde nach Darstellung der Pfortaderäste eine Ligatur (2/0 Prolene) des linken Pfortaderhauptastes (Pfortaderäste zu dem linkslateralen und linksmedialen Segment) und des rechten medialen Astes unter sicherer Schonung des rechten lateralen Astes durchgeführt. 60 Minuten nach durchgeführter Ligatur erfolgte die standardisierte Blutentnahme aus dem ZVK, der Vena portae und aus der V. hepatica sowie eine zweite Pfortader-Druckmessung. Anschließend wurde eine zweite ausgiebige Duplex-Sonographie der Leber und Milz durchgeführt. Aus dem linkslateralen und rechtslateralen Segmenten (II und VI/VII) wurde eine zweite Parenchymprobe entnommen und die entstandene Parenchymfläche wie oben beschrieben geschlossen.

Leberresektion (PH)

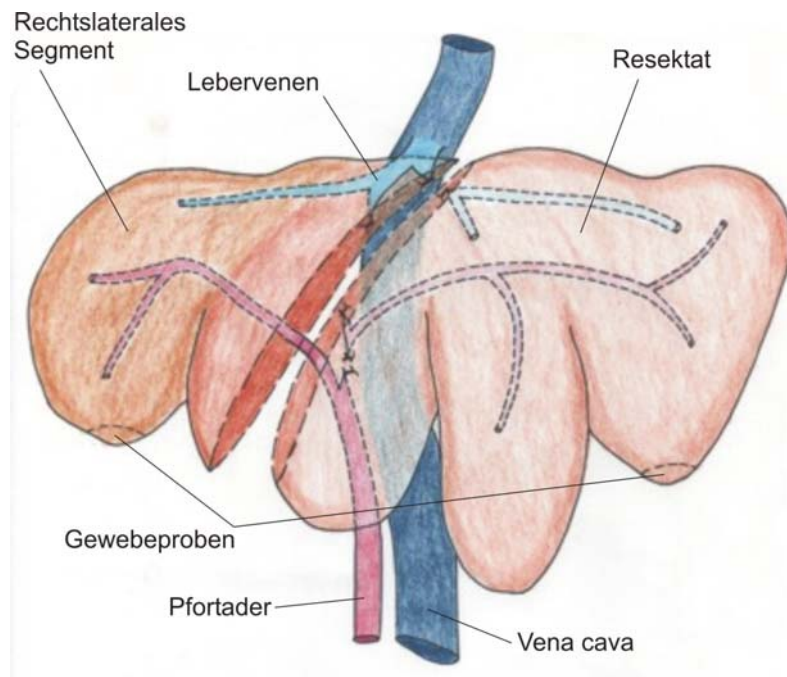


Abb. 2: Schematische Darstellung einer Schweineleber mit erweiterter Hemihepatektomie links

In der PH-Gruppe wurde im Anschluss an die Messungen eine Resektion des linkslateralen, linksmedialen und des rechtsmedialen Lebersegmentes im Sinne einer erweiterten Resektion durchgeführt. Nach sorgfältiger Präparation des Leberhilus und der Dissektion des Lig. hepatoduodenale wurden der darin verlaufende Gallengang, die Pfortader und die Leberarterie zu dem linkslateralen, linksmedialen und rechtsmedialen Lebersegmentes nach Präparation und anschließender Ligatur (2/0 Prolene) durchtrennt und ggf. selektiv umstochen. Die Gallenblase wurde infundibulumnah abgetrennt, um den Gallengang für das verbleibende rechtslaterale Segment sicher zu schonen. Nach Mobilisation der Leber wurde auf der Leberoberfläche die Resektionslinie mit Hilfe der Diathermie markiert. Entlang dieser Markierung wurde die Parenchymbrücke durch 10-12 Cysticusklammern im Sinne einer Klemmen-Fracture-Technik disseziert und so ca. 75% des Leberparenchyms entfernt. Dabei wurden die Cysticusklammern unter sicherer Schonung des venösen Ausflusses mit Prolene-Nähten umstochen und somit größere Blutungen umgangen. Kleinere Blutungen wurden mit der Diathermie koaguliert, danach noch bestehende Blutungsquellen ebenfalls umstochen. Gallengang und A. hepatica wurden auf Unversehrtheit kontrolliert, nachdem das Resektat entnommen und gewogen wurde.

60 Minuten nach durchgeführter Resektion erfolgten auch in dieser Gruppe Sonographie, standardisierte Blutentnahmen, Pfortaderdruckmessung und die Entnahme der Parenchymprobe wie bereits oben beschrieben.

Leberresektion + TIPS (TIPS)

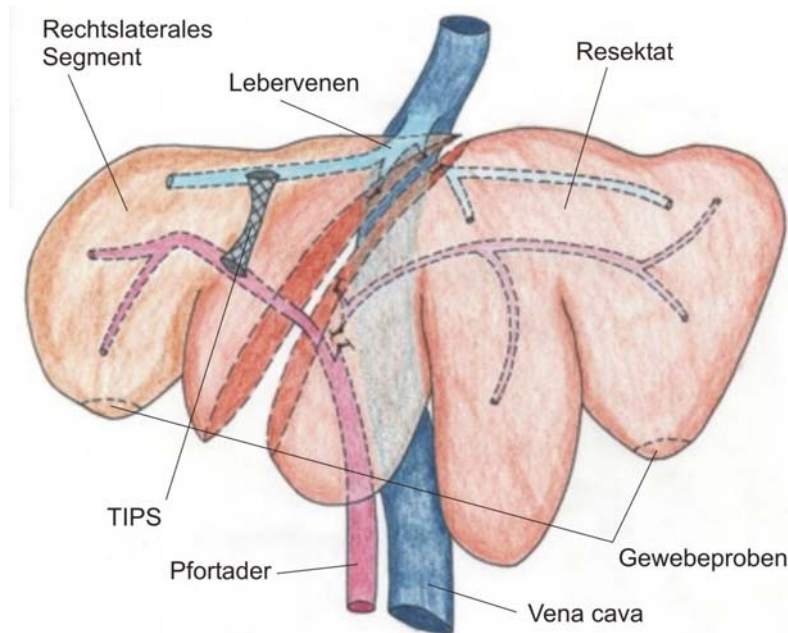


Abb. 3: Schematische Darstellung einer Schweineleber mit erweiterter Hemihepatektomie links und TIPS

In der TIPS-Gruppe wurde in der Operationsvorbereitung anstatt des ZVK eine 9F-Schleuse (Brite Tip FHEATH, Cordes) in der rechten Vena jugularis interna platziert. Vorgegangen wurde dabei analog der oben beschriebenen ZVK Anlage. Im Anschluss an das Messprozedere wurde wie in der Resektions-Gruppe eine erweiterte Hemihepatektomie links durchgeführt. Nach Überprüfung der Vitalparameter und Kontrolle der Resektionsfläche auf Bluttrockenheit wurde unter Bildwandlerkontrolle (HBV 25, Philips, Germany) der Führungsdraht über die Schleuse in die verbliebene rechtslaterale Lebervene vorgeschoben und unter radiologischer, sonographischer und palpatorischer Kontrolle platziert. Über diesen erfolgte die selektive Platzierung des TIPS (Easy Wall Stent, Titan, Länge 43mm, Durchmesser 6mm). Nach erfolgreicher Implantation erfolgte das gleiche „1 Stunden“ Messprozedere etc. wie in den anderen Gruppen. Nach Bestimmung der

Durchgängigkeit und der Flussgeschwindigkeit innerhalb des TIPS mittels Doppler-Duplex-Sonographie wurde die Schleuse gegen einen ZVK ausgewechselt.

Scheinoperation (SO)

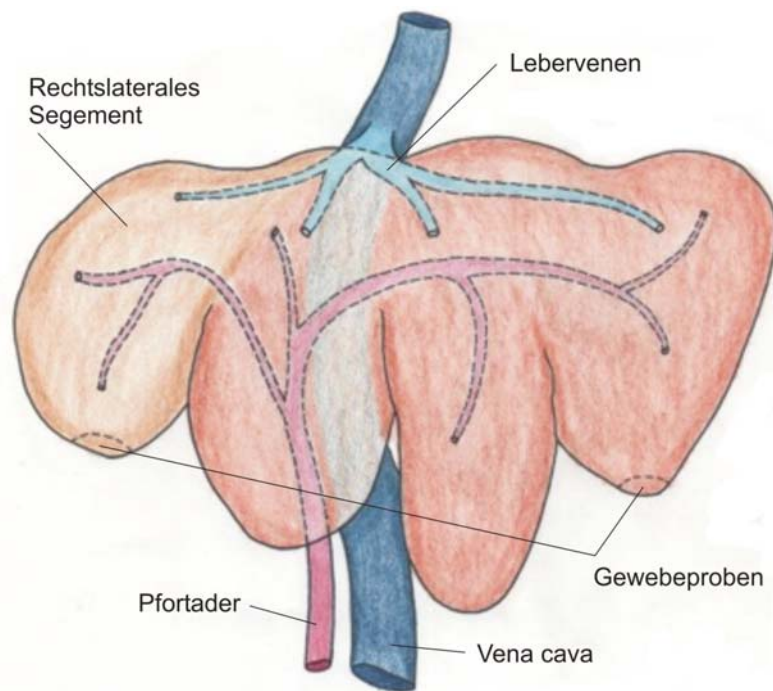


Abb. 4: Schematische Darstellung einer Schweineleber der Kontrollgruppe

In der SO-Gruppe wurde, um den Ablauf der drei anderen Operationsmethoden möglichst genau zu simulieren, auch hier nach Durchführung des Messprocedures eine Stunde gewartet, bevor erneut Blut- und Gewebeprobe entnommen wurden.

Anschließend erfolgte bei allen Tieren der standardisierte, schichtgerechte Bauchdeckenverschluss und Hautverschluss durch Naht.

3.4.4 Postoperativer Verlauf:

Die Tiere verblieben bis zum vollständigen Erwachen aus der Narkose unter Aufsicht und Überwachung der Vitalparameter (Monitoring). Über Infusionen erhielten die Tiere zur Analgesie Novalgin. Erst nachdem die Tiere eine suffiziente Eigenatmung zeigten (keine maschinelle Beatmung, Sauerstoffsättigung > 95 Prozent), wurden sie vom Monitoring genommen und in die auf ca. 26° Celsius erwärmte Aufwachbox

gebracht. Die ersten 24 Stunden wurden die Tiere in dieser gesonderten Stallung unter kontinuierlicher Wärmeapplikation und Infusionstherapie überwacht, danach erfolgte die normale Unterbringung. Die Vor- und Nachbereitungszeit zur Operation betrug pro Eingriff ca. 6 Stunden, die eigentliche Operationsdauer variierte zwischen 2 und 7 Stunden je nach Operation. Blutentnahmen über den ZVK und standardisierte Dokumentation des Befindens des jeweiligen Tieres samt individueller Medikation und/oder Volumensubstitution erfolgten 6, 12, 24, 48, 72 Stunden postoperativ.

In den ersten drei Tagen wurde durch regelmäßige Infusionen und subcutane retroauriculäre Injektion von 40mg Flunixin (Finadyne®) alle 24 Stunden eine adäquate Analgesie gewährleistet. Außerdem wurde über drei Tage eine Antibiotikaphylaxe mit Penicillin und Streptomycin durchgeführt. Ab dem 1. postoperativen Tag erhielten die Tiere freien Zugang zu Trinkwasser und Futter. Die letzten 16-24 Stunden vor der zweiten Operation wurden die Tiere wieder nüchtern gestellt.

3.4.5 Zweite operative Sitzung und Tötung der Tiere

Nach drei Tagen erfolgte unter identischen Bedingungen wie bei der Erstoperation die Re-Laparotomie. Dazu wurde das zu operierende Tier durch 2 ml Dormicum über den ZVK sediert. Intubation, arterieller Zugang, kontinuierliches Monitoring und Überwachung der Vitalparameter etc. erfolgten analog der ersten Operation. Die Laparotomie wurde durch Nahtentfernung und die dadurch schichtweise Eröffnung des Abdomens durchgeführt. Es folgte die Entnahme von Blutproben aus dem ZVK, der Pfortader und der Lebervenen, Entnahme von Gallenflüssigkeit (wenn Gallenblase noch vorhanden), Messungen der Größe des rechtslateralen Lebersegmentes und des Pfortaderdruckes auf die gleiche Weise wie bei der ersten Operation. Eine intraoperative Doppler-Duplex-Sonographie des rechtslateralen Lebersegmentes und der Milz an den identischen Stellen folgte ebenso wie die Entnahme von Parenchymproben aus den verbleibenden Lebersegmenten.

Nach Abschluss der kompletten Messungen erfolgte die Tötung des Tieres mittels intravenöser Gabe von 20 ml T61® (Intervet International). Nach der Sicherstellung des Todes anhand der Vitalparameter und des Monitorings wurde die Restleber standardisiert entnommen und die Größe und das Gewicht bestimmt. Ca. 2x2 cm

große Biopsien wurden aus Milz, Niere, Pankreas, Herz, Lunge, und Duodenum entnommen, entsprechend präpariert und fachgerecht in Formalin, Tissue-tek® und Stickstoffkonservierung zur weiterführenden molekularbiologischen Aufarbeitung oder histologischen Überprüfung asserviert. Die Leberproben für die Dünnschichtmikroskopie wurden in einer Speziallösung aufbereitet. Nach Abschluss der Probenentnahme wurden alle Fremdkörper entfernt und die Bauchdecke mit einer fortlaufenden CT1-Naht verschlossen.

3.5 Klinische Chemie

3.5.1 Leberfunktion

Die Leber ist das zentrale Organ für den gesamten Stoffwechsel des Organismus. Ihre Funktion kann in Teilfunktionen eingeteilt werden:

- Bildung und Ausscheidung von Galle
- Stoffwechselfunktion
- Synthese von Plasmaproteinen, Enzymen, Gerinnungsfaktoren, Akute-Phase-Proteinen, u.a.
- Entgiftung (z.B. Ammoniak)
- Speicherung (z.B. Eisen, Kupfer, Glykogen, Fett)

Einen einzigen Globaltest zur Erfassung der gesamten Leberfunktion gibt es nicht. Da bei Lebererkrankungen die einzelnen Partialfunktionen in wechselndem Ausmaß beeinträchtigt sind, sind in der Leberdiagnostik immer mehrere Untersuchungen notwendig, welche die Partialfunktionen erfassen. Andererseits ist so gut wie nie eine einzige Funktion allein gestört. Je nachdem, ob der Zellzerfall, die Synthesestörung oder die Ausscheidungsstörung im Vordergrund steht, werden die entsprechenden Parameter mehr oder weniger pathologisch verändert sein. Die Laboratoriumsdiagnostik stützt sich im Wesentlichen auf die Serumenzymaktivitäten (ALT, AST, alkalische Phosphatase, GGT) und auf die Bestimmung von Synthese- und Ausscheidungsprodukten der Leber wie Bilirubin, Plasmaproteine, Gerinnungsfaktoren, Cholinesterasen, Ammoniak und Cholesterin.

3.5.2 Serumenzymaktivität

Enzyme des Leberparenchyms

Bei Störungen der Zellpermeabilität der Leberzelle oder bei Leberzellnekrosen kommt es zum Austritt von Zellenzymen ins Plasma. Die beiden wichtigsten sind die Alanin-Aminotransferase ALT (GPT) und die Aspartat-Aminotransferase AST (GOT). Je intensiver die Leberzellschädigung und je ausgedehnter die Leberzellnekrose, desto höher sind die Serumenzymaktivitäten. Da die AST sowohl mitochondrial wie zytoplasmatisch lokalisiert ist, die ALT jedoch nur zytoplasmatisch, weist eine Erhöhung der ALT allein nur auf eine Zellpermeabilitätsstörung, die Erhöhung der AST hingegen auf eine Leberzellnekrose hin. Die ALT hat eine Biologische Halbwertszeit von 50h (47 ± 10 h) und findet sich im weitaus überwiegendem Teil in der Leber. Aktivität findet sich aber auch in den Nieren und in geringen Mengen in Herz- und Skelettmuskel. Die AST hat dagegen nur eine Halbwertszeit von 18h (17 ± 5 h) und findet sich in der Leber, in Herz- und Skelettmuskulatur sowie in geringen Mengen in Niere, Milz und Pankreas.

Ein weiteres wichtiges Enzym zur Beurteilung der Leberfunktion ist die Glutamatdehydrogenase (GLDH). Das Enzym steigt bei Leberparenchymerkrankungen stark an, wobei die Erhöhung so gut wie spezifisch für das Vorliegen von Lebernekrosen ist (mitochondriales Enzym). Die GLDH hat eine biologische Halbwertszeit von 18-20 h und ist in den Mitochondrien der Leber, sowie in geringen Mengen im Herzmuskel lokalisiert.

Cholinesterasen

Die Serumcholinesterasen unterscheiden sich von den bisher beschriebenen Enzymen dadurch, dass sie von der Leber synthetisiert und ins Plasma abgegeben werden und dort eine physiologische Funktion ausüben. Der Nachweis ihrer Aktivität im Serum ist somit nicht Ausdruck einer Zellschädigung, sondern der normalen Syntheseleistung der Leber. Als pathologische Reaktion ist somit für die CHE eine Abnahme und nicht eine Steigerung der Aktivität im Serum anzusehen. Die Verminderung der CHE verläuft im allgemeinen parallel zur Serumalbuminkonzentration. Die CHE hat eine biologische Halbwertszeit von 10 Tagen.

3.5.3 Synthese von Plasmaproteinen und Gerinnungsfaktoren

Plasmaproteine

Die Leber hat die Funktion der Proteinsynthese, des Proteinkatabolismus, der Regulation der Aminosäurekonzentrationen im Plasma und ist das Organ spezieller hormoneller Regulation des Proteinstoffwechsels. Aus diesem Grund muss sich eine Störung der Leberfunktion in einer Änderung der Plasmaeiweißkörper und der Aminosäuren äußern.

Albumin gehört zu den Plasmaproteinen im engeren Sinne und wird in der Leber synthetisiert. Bei schweren Leberfunktionsstörungen kommt es zum Absinken der Albuminkonzentration im Serum. Die Halbwertszeit im Blut beträgt etwa 20 Tage.

Gerinnungsfaktoren

Die meisten Gerinnungs- und Fibrinolysefaktoren sowie ihre Inhibitoren werden in der Leber synthetisiert und über das RES der Leber aus dem Plasma eliminiert. Die Plasmakonzentration der Gerinnungsfaktoren gibt daher einen guten Einblick in die jeweilige Synthesekapazität der Leber. Zur Abschätzung der Proteinsynthesekapazität können die Faktoren II, V, VII und X herangezogen werden. Zur Beurteilung der Faktoren VII und X ist die Bestimmung der Thromboplastinzeit (Quick-Wert) ausreichend.

3.5.4 Akute-Phase-Proteine

Als Akute-Phase-Reaktion (APR) bezeichnet man die systemische, unspezifische Reaktion des Organismus auf akute Entzündungen, Infektionen, Verbrennungen und Gewebenekrosen verschiedener Ursachen (z.B. postoperativ). Die Leber ist bei den metabolischen Veränderungen von hervorragender Bedeutung, da sie in der APR mit der gesteigerten Synthese und Sekretion einer Reihe von Plasmaglykoproteinen reagiert. Zwei der wichtigsten Akute-Phase-Proteine sind das Fibrinogen und das C-reaktive Protein.

Das C-reaktive Protein (CRP) gilt als das klassische Akute-Phase-Protein, da es aufgrund seiner schnellen Reagibilität (Halbwertszeit des Anstiegs 5-7 Stunden, HWZ des Abfalls 2-4 Stunden), seines starken Konzentrationsanstiegs und seiner positiven Korrelation mit dem Ausmaß einer Entzündung der wichtigste klinische Verlaufsparemeter der Akute-Phase-Reaktion ist.

Fibrinogen wird in der Leber gebildet. Niedrige Fibrinogenkonzentrationen findet man bei Synthesestörungen der Leber, bei der Verbrauchskoagulopathie und bei Hyperfibrinolyse. Außerdem ist Fibrinogen ein typisches Akute-Phase-Protein, seine Konzentration steigt z.B. bei Gewebeverletzungen und Entzündungen sehr schnell und stark an.

3.5.5 Messzeitpunkte und Zielparameter

Zu den Zeitpunkten 0, 1, 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden wurden venöse Blutproben entnommen. Mit Hilfe des Zentrallaboratoriums der Klinischen Chemie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf wurde die Plasmakonzentration des CRP (mg/l), der ALT(GPT) (U/l), der AST(GOT) (U/l), der GLDH (U/l) ermittelt. Außerdem wurde noch die Konzentration des Albumin im Serum (g/l), des Fibrinogens (g/l), des gesamt Bilirubins (g/l), des Faktor V (%) und der Quick-Wert (%) bestimmt. Die Auswertung erfolgte dabei ohne Kenntnis der Gruppenzugehörigkeit der einzelnen Versuchstiere.

3.6 Histologische Analysen

3.6.1 Fixierung der Gewebe und Anfertigung der histologischen Schnitte

Die intraoperativ gewonnenen Gewebeproben wurden sofort nach der Entnahme in 5%iger Formalin-Lösung eingebracht und für mindestens 24 Stunden fixiert. Außerdem wurden unbehandelte Gewebeproben in flüssigem Stickstoff und in Tissue-tek® (Sakurafinotech, Finland) tiefgefroren und für spätere Analysen im -80 Grad Celsius kalten Tiefkühlschrank gelagert. Die formalinfixierten Gewebeproben wurden anschließend in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Paraffin eingebettet. Von den Lebergewebe enthaltenden Paraffinblöcken wurden mit einem Mikrotom (Jung AG, Heidelberg) jeweils 10 Schnitte mit einer Schnittdicke von 4-5 µm angefertigt und auf Glas-Objektträger aufgebracht.

3.6.2 Färbetechniken

Die angefertigten Paraffinschnitte wurden auf zwei verschiedene Arten gefärbt. Vier Schnitte wurden jeweils mit Haematoxylin-Eosin(HE-Färbung) und weitere vier

Schnitte mit Trichrom (Masson-Goldner-Färbung) angefärbt. Die HE-Färbung dient dabei als Übersichtsfärbung, mit der möglichst viele Strukturen angefärbt werden. Mit der Trichromfärbung werden durch den kombinierten Einsatz dreier unterschiedlicher Färbelösungen Muskelfasern, Kollagenfasern, Fibrin und Erythrozyten selektiv dargestellt. Die Auswahl der eingesetzten Farbstoffe, die sich in der Molekülgröße unterscheiden, ergibt eine differenzierte Anfärbung der einzelnen Gewebsbestandteile. Nach der Kernfärbung mit WEIGERTS Eisenhämatoxylin (MASSON-GOLDNER-Färbekit, MERCK) werden die Bestandteile wie Muskulatur, Zytoplasma und Erythrozyten mit Azophloxin (MASSON-GOLDNER-Färbekit, MERCK) und Orange G-Lösung (MASSON-GOLDNER-Färbekit, MERCK) angefärbt. Das Bindegewebe wird anschließend mit Lichtgrün SF-Lösung (MASSON-GOLDNER-Färbekit, MERCK) gegengefärbt. Nach der Färbung wurden die Präparate mit Entellan eingedeckt und mit einem Deckgläschen versehen.

Färbeprotokoll für Hämatoxylin-Eosin-Färbung :

- Entparaffinierung in Rotihistol 2 x 5 Min.
- Absteigende Alkoholreihe
 - 2 x 100 % jeweils 3 Min.
 - 2 x 96 % jeweils 3 Min.
 - 2 x 80 % jeweils 3 Min.
- Aqua dest. kurz
- WEIGERTS Eisenhämatoxylin 5 Min.
- Unter Leitungswasser wässern 10 Min.
- Eosin 0,1 % 5 Min.
- Aqua dest. kurz
- Aufsteigende Alkoholreihe
 - 2 x 80 % jeweils 3 Min.
 - 2 x 96 % jeweils 3 Min.
 - 2 x 100 % jeweils 3 Min.
- Rotihistol 2 x 5 Min.

Färbeprotokoll für Trichrom-Färbung :

- Entparaffinierung in Xylol 2 x 5Min.
- Absteigende Alkoholreihe
 - 2 x EtOH 100 % jeweils 1 Min.
 - 2 x EtOH 96 % jeweils 1 Min.
 - 2 x EtOH 80 % jeweils 1 Min.
- Hämatoxylin nach WEIGERT 5 Min.
- Leitungswasser, fließend 5 Min.
- Spülen in Essigsäure 1 % 30 Sec.
- Azophloxin-Lösung 10 Min.
- Spülen in Essigsäure 1 % 30 Sec.
- Phosphorwolframsäure-Orange G-Lösung 1 Min.
- Spülen in Essigsäure 1% 30 Sec.
- Lichtgrün SF 2 Min.
- Aufsteigende Alkoholreihe
 - EtOH 80 % 30 Sec.
 - EtOH 96 % 30 Sec.
 - 2 x EtOH 100 % jeweils 30 Sec.
- 2 x Xylol jeweils 5 Min.
- Eindecken mit Entellan

3.6.3 Auswertungsmethodik

Die Auswertung der histologischen Schnitte wurde von drei unabhängigen Beobachtern an einem konventionellen Lichtmikroskop getrennt voneinander anhand eines standardisierten Dokumentationsbogen durchgeführt. Die Untersuchung wurde dabei ohne Kenntnis über Gruppenzugehörigkeit oder Zeitpunkt der Entnahme des jeweiligen Präparates durchgeführt.

Zuerst wurde das Präparat mit der schwächsten Vergrößerung (10 fache Vergrößerung) betrachtet. Hierbei wurde besonders auf die Verwertbarkeit des Präparates geachtet. So wurden die Qualität des Schnittes (nicht zu dick, nicht zu viele Artefakte) und die Qualität der Färbung (nicht zu blass) beurteilt. War das Präparat in gutem Zustand, wurde es bei mittlerer Vergrößerung (40 fache Vergrößerung) betrachtet. Auf dieser Stufe fand die Beurteilung der Verfettung (in

%, bezogen auf den gesamten Schnitt) und der Nekrose (in %, bezogen auf den gesamten Schnitt) statt. Außerdem wurde das Maß der Entzündung beurteilt. Hierzu wurde ein „Histo-Score“ von 0 bis 4 erstellt. 0 entsprach dabei keinen sichtbaren Entzündungszeichen, 1 einer minimalen, 2 einer geringen, 3 einer mäßigen und 4 einer starken Entzündung. Zur Beurteilung der mitotischen Aktivität wurde eine noch stärkere Vergrößerung (100 fache Vergrößerung) gewählt. In dieser Vergrößerung wurden nun 10 unterschiedliche Gesichtsfelder des Schnittes nach Mitosen durchsucht und gezählt.

Alle Ergebnisse wurden vom jeweiligen Untersucher in einem dafür erstellten Protokoll notiert, so dass anschließend eine Gruppenzuordnung und Auswertung möglich waren. Zur Auswertung wurde ein gemittelter Wert zwischen den Ergebnissen der drei Untersucher gebildet.

3.7 Semidünnschnitte

Zur noch besseren Beurteilung der Verfettung, Nekrose, Entzündung und Mitose wurden zusätzlich zu den konventionellen Histologien noch Toluidinblau/Pyronin G gefärbte Semidünnschnitte angefertigt. Die Semidünnschnitte wurden in Zusammenarbeit mit Herrn Professor Davidoff aus dem Anatomischen Institut des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf hergestellt.

Dafür wurden 2-3 mm dicke Leberparenchymscheiben direkt nach der Entnahme in 5,5% Glutaraldehyd in 0,05 M Phosphatpuffer, pH 7,2 für 2 Stunden fixiert. Nach Dehydrierung in einer aufsteigenden Alkoholreihe wurde das Material in Epon 812 eingebettet. Anschließend wurden Semidünnschnitte mit einer Dicke von 1-2 µm angefertigt, die freischwimmend mit Toluidinblau / Pyronin G (Ito and Winchester 1963) angefärbt wurden.

3.8 Statistik

Alle Messwerte werden, sofern nicht anders gekennzeichnet, als Differenzwerte zwischen 0 Stunden und 72 Stunden angegeben, um die Veränderungen quantitativ zu erfassen. Für diese wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mittelwerte berechnet. Angegeben werden diese als Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes.

Zur Berechnung der Signifikanz kamen der ANOVA-Test (einfaktorielle Varianzanalyse) und der Bonferroni Post-Hoc-Test (Mehrfachvergleiche) zum Einsatz. Es wurde von bestehender Signifikanz bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ ausgegangen.

4. Ergebnisse

4.1 Operationsmorbidity und Letalität

Insgesamt wurden 52 Versuchstiere im Rahmen dieser Studie operiert.

11 Tiere wurden in der Gruppe der Pfortaderastligatur einer Operation unterzogen. Alle 11 Tiere überlebten den Eingriff und konnten nach drei Tagen planmäßig relaparotomiert werden. Zwei der Tiere wurden nachträglich aus der Auswertung genommen, wobei bei einem Tier versehentlich eine arterielle Ligatur des linkslateralen Segmentes vorgenommen wurde und bei dem anderen Tier ein Galleleck bestand. Am Ende konnten 9 Tiere in die Auswertung einbezogen werden.

13 Tiere wurden in der Gruppe der Leberresektion operiert. 6 Tiere überlebten den Eingriff 72 Stunden und konnten der zweiten operativen Sitzung unterzogen werden. Weitere drei Tiere lebten mindestens 35 Stunden (36h, 39h, 63h), so dass wir sie mit in die Auswertung einbeziehen konnten. So standen auch in dieser Gruppe 9 Tiere für die Auswertung zur Verfügung. Die restlichen vier Tiere verstarben entweder intraoperativ oder kurz nach der Operation, so dass die Überlebenszeit nicht ausreichte, um sie mit in die Auswertung einzubeziehen. Als Ursache ist hier einerseits ein zu großer intraoperativer Blutverlust mit anschließendem Kreislaufversagen bei drei Tieren als auch ein durch die Narkose bedingtes Fehlen der postoperativen Spontanatmung bei einem Tier verantwortlich.

19 Tiere wurden in der TIPS-Gruppe einer Operation unterzogen. 6 Tiere lebten zum Zeitpunkt der zweiten Operation nach 72 Stunden noch. Weitere drei Tiere lebten auch hier länger als 35 Stunden (42h, 58h, 62h) und konnten ausgewertet werden. So besteht auch diese Gruppe aus 9 Tieren. Die anderen 10 Tiere verstarben alle während der Operation oder in den ersten 24 Stunden postoperativ. Als Ursachen waren verantwortlich: -Intraoperativer Blutverlust mit konsekutivem Kreislaufversagen bei drei Tieren, -Verdacht auf Lungenembolie bei drei Tieren, -Vorzeitige Euthanasie mit T61 bei Versagen des TIPS bei zwei Tieren, -Ungeklärte Todesursache bei einem Tier.

In der Gruppe der Scheinoperation wurden 9 Tiere einem operativen Procedure unterzogen. Alle 9 Tiere überlebten den Eingriff problemlos und konnten nach 72

Stunden relaparotomiert werden. Ein Tier wurde nachträglich aus der Auswertung genommen, da hier aus organisatorischen Gründen die Relaparotomie bereits nach 48 Stunden stattfand. Damit konnten 8 Tiere in die Auswertung genommen werden.

OP-Technik	Insgesamt operiert	35h überlebt	72h überlebt
Ligatur (PBL)	11	11	11
Resektion (PH)	13	9	6
TIPS (TIPS)	19	9	6
Schein-OP (SO)	9	9	9

(Tabellarische Darstellung der 35 Stunden bzw. 72 Stunden Überlebensrate der Tiere nach den unterschiedlichen Operationstechniken.)

Im weiteren Verlauf der Ergebnisbeschreibung werden nur die in die Auswertung aufgenommenen Tiere berücksichtigt. Daraus ergeben sich als bereinigte Gruppengrößen:

- 9 Tiere mit Pfortaderastligatur
- 9 Tiere mit erweiterter Hemihepatektomie links
- 9 Tiere mit erweiterter Hemihepatektomie links + TIPS
- 8 Tiere mit Scheinoperation

4.2 Klinische Chemie

4.2.1 Enzyme des Leberparenchyms (AST, ALT, GLDH, CHE)

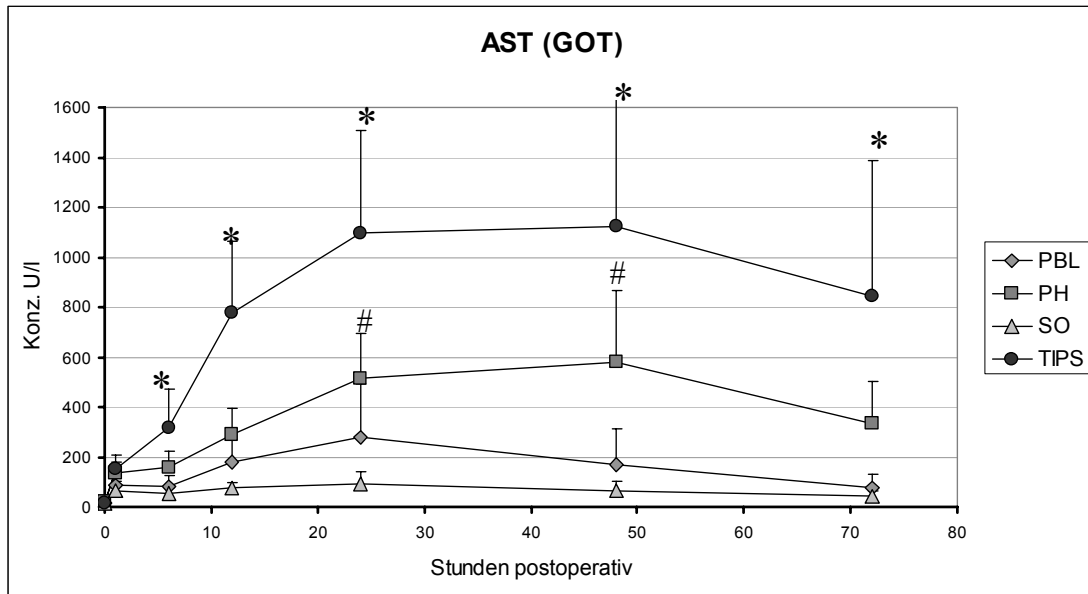


Abb. 5: Graphische Darstellung der AST-Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) (*: $p < 0,05$ (TIPS vs. PBL, PH, SO); #: $p < 0,05$ (PH vs. SO); ANOVA-Test, Bonferroni Post-Hoc-Test)

Die Abbildung 5 zeigt den Plasmaspiegel der AST-Konzentration im Verlauf. Dabei zeigt sich ein rascher Anstieg der Konzentrationen in den Resektions-Gruppen mit einem punctum maximum nach 24-48 Stunden. Die TIPS-Gruppe zeigt dabei bereits nach 6 Stunden einen signifikanten Anstieg gegenüber allen anderen Gruppen, der auch nach 72 Stunden noch besteht. In der Resektionsgruppe dagegen kommt es erst nach 24 Stunden zu einem signifikanten Anstieg gegenüber der Scheinoperationsgruppe, der sich nach 72 Stunden bereits wieder erholt hat. Die Gruppe der pfortaderligierten Tiere zeigt nur einen geringen Anstieg der AST-Konzentration, der gegenüber der SO-Gruppe nicht signifikant ist. Nach Scheinoperation wurde eine mittlere Höchstkonzentration von 91 U/l (± 53) erreicht. In der PBL-Gruppe lag die mittlere Höchstkonzentration bei 281 U/l (± 211), in der PH-Gruppe bei 582 U/l (± 283) und in der TIPS-Gruppe bei 1122 U/l (± 548).

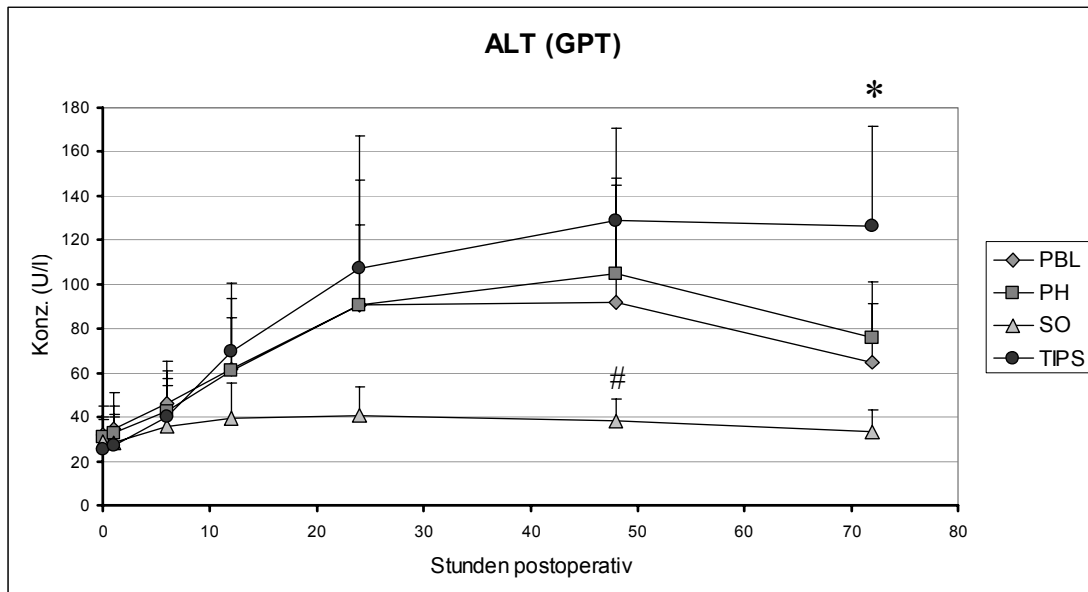


Abb. 6: Graphische Darstellung der ALT-Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO). (*: $p < 0,05$ (TIPS vs. PBL, SO); #: $p < 0,05$ (SO vs. PH, TIPS); ANOVA-Test, Bonferroni Post-Test)

Die ALT- Verlaufskurve (Abb. 6) zeigt ein dem AST- Verlauf ähnliches Bild. Auch hier erfolgt ein rascher Anstieg der Plasmakonzentrationen nach Resektion bzw. portaler Ligatur mit einem punctum maximum nach ca. 48 Stunden post OP. Nach 48 Stunden kam es zu einem signifikanten Anstieg der ALT-Konzentration in den Resektionsgruppen gegenüber den scheinoperierten Tieren. In der TIPS-Gruppe war dieser Anstieg auch nach 72 Stunden noch signifikant und konstant hoch, wogegen die Konzentration in der PH-Gruppe zu diesem Zeitpunkt bereits wieder fiel. Die im Mittel höchste ALT- Konzentration nach portaler Ligatur betrug 92 U/l (± 56) und war damit nicht signifikant höher als die mittlere Höchstkonzentration nach Scheinoperation (40 U/l (± 13)). Nach Resektion wurde dagegen ein signifikanter Konzentrationsanstieg auf Werte von 105 U/l (± 40) beobachtet. Nach Resektion + TIPS wurde der stärkste Konzentrationsanstieg mit einer mittleren Höchstkonzentration von 129 U/l (± 42) erreicht.

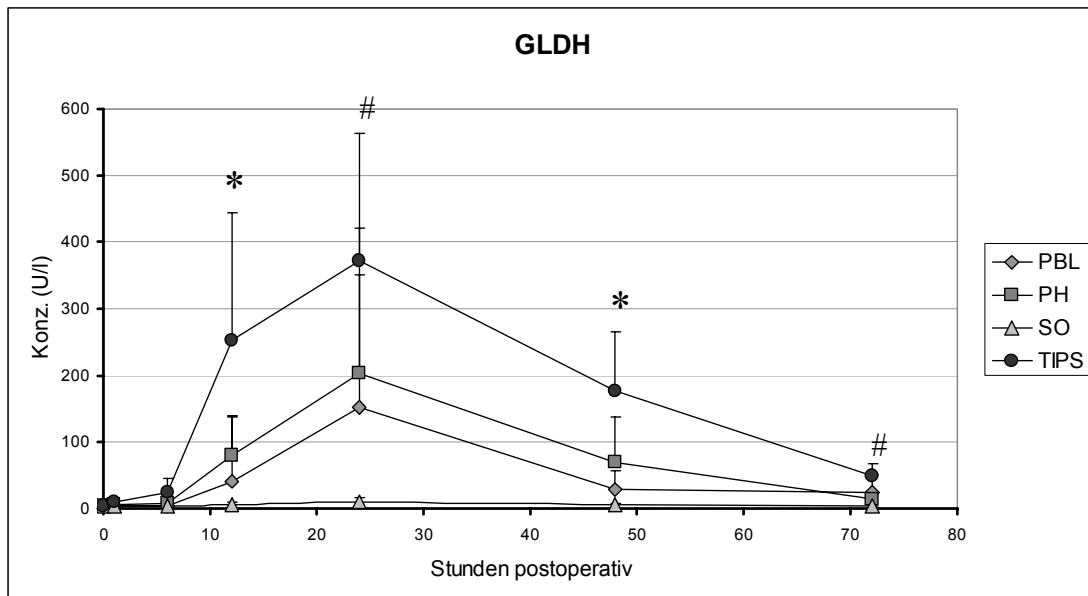


Abb. 7: Graphische Darstellung der GLDH– Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO). (*: $p < 0,05$ (TIPS vs. PBL, PH, SO); #: $p < 0,05$ (TIPS vs. SO); ANOVA-Test, Bonferroni Post-Test)

Die GLDH-Verlaufskurve (Abb. 7) aller vier Gruppen zeigt nach 6 Stunden einen beginnenden Anstieg, der nach 24 Stunden sein Maximum erreicht, dann wieder abfällt und nach 72 Stunden nahezu Ausgangswerte erreicht. Dabei kommt es besonders in der TIPS-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg. Nach 12 und 48 Stunden ist die GLDH-Konzentration in der TIPS-Gruppe signifikant höher als in allen anderen Gruppen. Zum Zeitpunkt 24 und 72 Stunden immerhin noch signifikant höher als in der SO-Gruppe. Die Resektions- und Ligaturgruppe zeigt zwar auch einen Anstieg, der jedoch nicht signifikant gegenüber der SO-Gruppe ist. Der praeoperative Ausgangswert lag bei 5 U/l und stieg innerhalb von 24 Stunden nach Scheinoperation im Mittel auf Maximalwerte von 10 U/l (± 8) an. Nach portaler Ligatur kam es zu einem Anstieg auf den mittleren Höchstwert von 152 U/l (± 268) nach 24 Stunden. Ein noch stärkerer Anstieg konnte nach Resektion beobachtet werden. Hierbei stieg die GLDH-Konzentration auf einen mittleren Maximalwert von 203 U/l (± 148). Am deutlichsten stieg die Konzentration in der TIPS-Gruppe. Dort wurde nach 24 Stunden im Mittel ein Höchstwert von 373 U/l (± 190) erreicht.

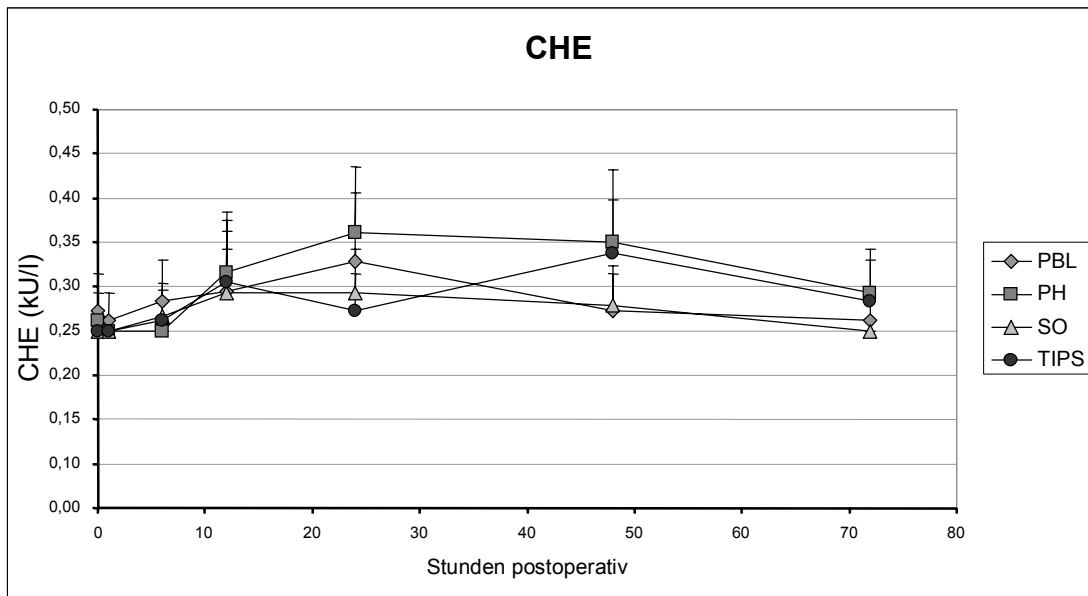


Abb. 8: Graphische Darstellung der CHE-Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).

Die graphische Darstellung der Cholinesterase-Aktivität (Abb. 8) zeigt einen minimalen Anstieg in allen vier Gruppen. In der Gruppe der scheineroperierten Tiere blieb die Konzentration im Verlauf über 72 Stunden konstant bei 0,2 U/l ($\pm 0,04$). In den Gruppen, in denen die Tiere einer Operation unterzogen wurden, kam es nach 12-48 Stunden zu einem minimalen Anstieg der CHE-Konzentration auf 0,3 U/l ($\pm 0,1$).

Zu einem Abfall der Konzentration und damit Ausdruck einer Synthesestörung kam es in keiner der vier Gruppen. Ebenso kam es zu keinem signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Operationsgruppen zu irgendeinem Zeitpunkt (ANOVA-Test).

4.2.2 Plasmaproteine und Gerinnungsfaktoren (Albumin, Quick, Faktor V)

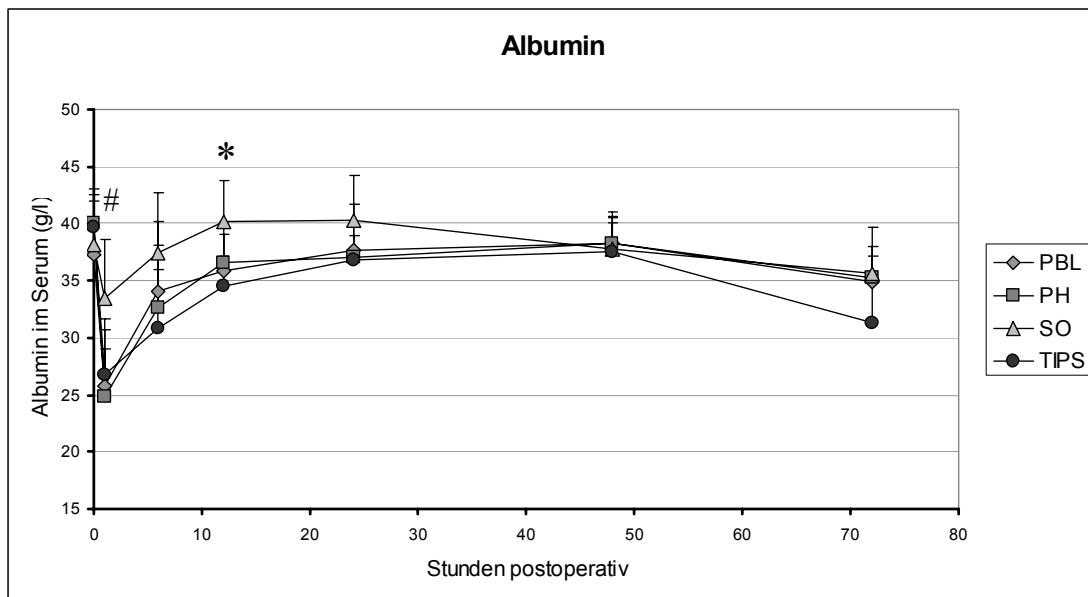


Abb. 9: Graphische Darstellung der Albumin-Serumkonzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).

(*: $p < 0,05$ (TIPS vs. SO); #: $p < 0,05$ (SO vs. PH, PBL); ANOVA-Test, Bonferroni Post-Hoc-Test)

Die Albuminverlaufskurve (Abb. 9) zeigt einen sofortigen Abfall der Konzentration mit Erreichen des Minimums bereits nach einer Stunde. Anschließend steigt die Konzentration bis zum Zeitpunkt 24 Stunden wieder an und zeigt dann wieder eine leicht abfallende Tendenz. Der präoperative Ausgangswert lag zwischen 37-40 g/l (± 4). Innerhalb der ersten Stunde kam es zu einem signifikanten Abfall der Albuminkonzentration in der PBL- und PH-Gruppe auf mittlere Minimalwerte von 25 g/l (± 4) in der PH-Gruppe und 26 g/l (± 5) in der PBL-Gruppe. Das Absinken in der TIPS-Gruppe war sehr ähnlich (auf 27 g/l (± 5)), jedoch nicht signifikant gegenüber der SO-Gruppe. In der Gruppe der scheinoperierten Tiere wurde ein Minimalwert von 33 g/l (± 5) erreicht. Zum Zeitpunkt 12h war die Albuminkonzentration in der TIPS-Gruppe signifikant niedriger als in der SO-Gruppe. Nach ca. 24 Stunden wurden in allen vier Gruppen nahezu der Ausgangswert wieder erreicht. Nach 48-72 Stunden zeichnet sich allerdings ein erneuter Abfall der Albuminkonzentration ab, dessen weitere Verlauf durch das Versuchsende nach 72 Stunden nicht vorhersagbar ist.

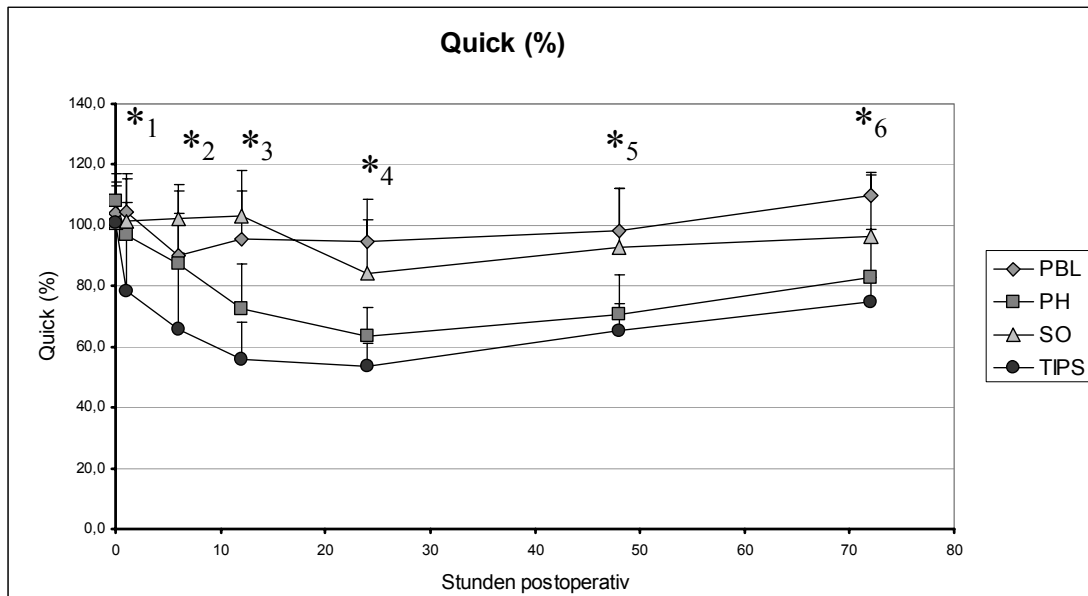


Abb. 10: Graphische Darstellung des Quick-Wertes im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO). (*1: $p < 0,05$ (TIPS vs. PBL, SO); *2: $p < 0,05$ (TIPS vs. SO); *3: $p < 0,05$ (TIPS vs. PBL, SO) und (PH vs. PBL, SO); *4: $p < 0,05$ (TIPS vs. PBL, SO) und (PH vs. PBL, SO); *5: $p < 0,05$ (TIPS vs. PBL, SO) und (PH vs. PBL); *6: $p < 0,05$ (PBL vs. TIPS, PH); ANOVA-Test, Bonferroni Post-Hoc-Test)

Die Abbildung 10 zeigt den Quick-Wert im Verlauf. Dabei ist ein sofortiges signifikantes Absinken des Quickwertes in den Resektionsgruppen zu beobachten, bis er nach etwa 24 Stunden sein Minimum erreicht hat und sich anschließend langsam wieder normalisiert. In der TIPS-Gruppe kommt es bereits eine Stunde postoperativ zu einem signifikanten Abfall des Quick-Wertes gegenüber der PBL- und SO-Gruppe. Dieser bleibt im gesamten Verlauf bis 72 Stunden nach der Operation noch signifikant erniedrigt gegenüber der PBL-Gruppe. Auch in der PH-Gruppe kommt es zu einem signifikanten Absinken gegenüber der SO- und PBL-Gruppe. Dieses setzt allerdings erst 12 Stunden postoperativ ein und ist nicht ganz so stark wie in der TIPS-Gruppe. Zwischen der TIPS- und der PH-Gruppe kommt es zu keinem signifikanten Unterschied. Nach Scheinoperation wurde ein mittlere Minimalwert von 84,1 % (± 18) nach 24 Stunden erreicht. In der portal ligierten Gruppe lag der mittlere Minimalwert bei 90,1 % (± 21) zum Zeitpunkt 6 Stunden. Dagegen lag er in der PH-Gruppe bei 63,6 % ($\pm 9,5$) und in der TIPS-Gruppe bei 53,8 % (± 8). In der scheinoperierten und in der portal ligierten Gruppe wurden nach 72 Stunden wieder die Ausgangswerte erreicht. In den Resektions-Gruppen lag der Quick-Wert allerdings nach 72 Stunden noch immer bei Werten um 80% (TIPS-Gruppe 74,6%, PH-Gruppe 82,7%).

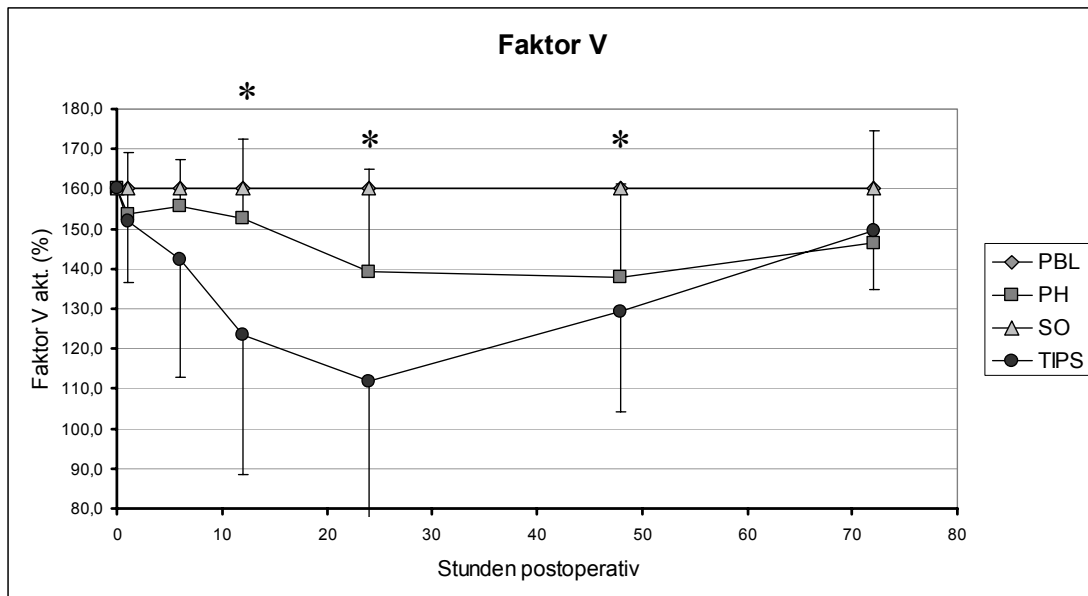


Abb. 11: Graphische Darstellung des Faktor V im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO).
 (*: $p < 0,05$ (TIPS vs. PBL, SO); ANOVA-Test, Bonferroni-Post-Hoc-Test)

In Abbildung 11 ist der zeitlichen Verlauf des Faktor V dargestellt. Der Ausgangswert des Faktor V lag in allen vier Gruppen bei 160 %. In der SO- und der PBL-Gruppe änderte sich dies im Verlauf über 72 Stunden nicht, und blieb konstant bei 160%. In den Resektions-Gruppen begann dagegen schon ab der ersten Stunde postoperativ ein Absinken des aktivierten Faktor V. In der PH-Gruppe erreichte er sein Minimum mit 137,7 % (± 23) nach 48 Stunden und war damit zwar deutlich aber nicht signifikant erniedrigt gegenüber der PBL- und SO-Gruppe. In der TIPS-Gruppe fiel er sogar auf ein Minimum von 111,8 % (± 42) bereits nach 24 Stunden ab. Im Zeitraum von 12 bis 48 Stunden postoperativ war er damit signifikant erniedrigt gegenüber der PBL- und SO-Gruppe. Anschließend erholten sich in beiden Gruppen die Faktor V-Werte wieder, erreichten nach 72 Stunden allerdings noch nicht wieder ihre Ausgangswerte.

4.2.3 Akute-Phase-Proteine (CRP, Fibrinogen)

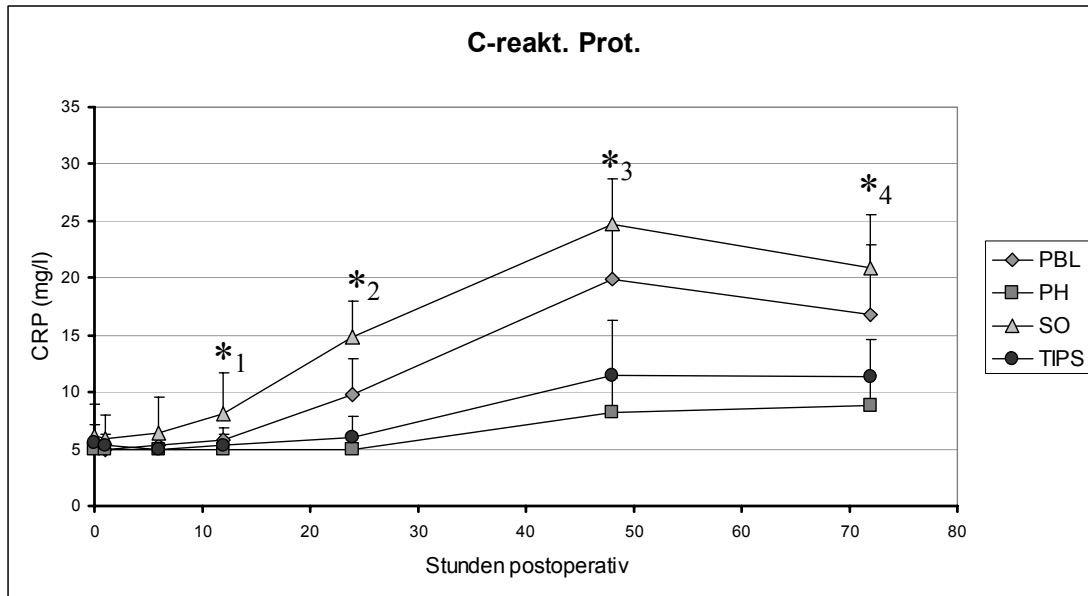


Abb. 12: Graphische Darstellung der Konzentration des C-reaktiven Proteins im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO). (*1: $p < 0,05$ (SO vs. PH, TIPS); *2: $p < 0,05$ (SO vs. PBL, PH, TIPS) und (PBL vs. PH, TIPS); *3: $p < 0,05$ (SO vs. PH, TIPS) und (PBL vs. PH, TIPS); *4: $p < 0,05$ (SO vs. PH, TIPS) und (PBL vs. PH); ANOVA-Test, Bonferroni Post-Hoc-Test)

Die CRP-Verlaufskurve (Abb.12) zeigt in allen drei Versuchsgruppen einen gleichförmigen Verlauf. Der Anstieg des CRP erfolgte dabei in allen vier Gruppen etwa 12-24 Stunden postoperativ mit einem punctum maximum nach ca. 48 Stunden. 6 Stunden nach Operationsbeginn war die CRP-Konzentration in der SO-Gruppe bereits signifikant höher als in der PH- und TIPS-Gruppe. Ab 24 Stunden postoperativ war ein signifikanter Unterschied der Konzentration in der SO- und PBL-Gruppe gegenüber den Resektionsgruppen zu verzeichnen. Dieser Unterschied war auch nach 72 Stunden noch signifikant. Die mittleren Höchstkonzentrationen lagen nach einer Scheinoperation bei 25 mg/l (± 4), nach portaler Ligatur bei 20 mg/l (± 5), nach Resektion + TIPS bei 12 mg/l (± 5) und bei der Resektions-Gruppe bei 8 mg/l (± 3) und zeigten damit lediglich leichte entzündliche Reaktionen an.

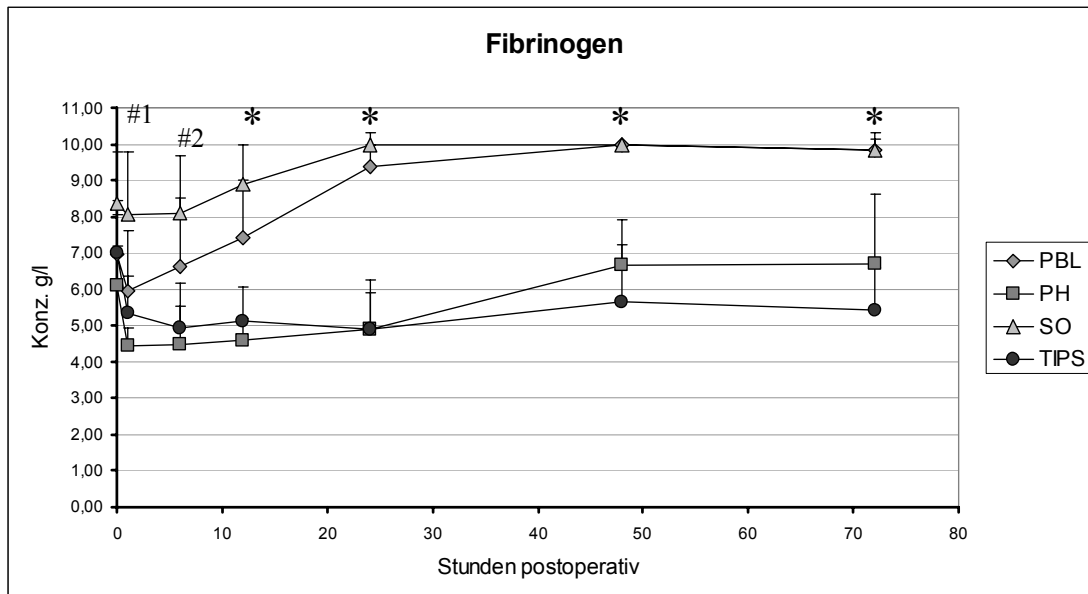


Abb. 13: Graphische Darstellung der Fibrinogen-Konzentration im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO). (*: $p < 0,05$ (SO vs. PH, TIPS) und (PBL vs. PH, TIPS); #1: $p < 0,05$ (SO vs. PBL, PH, TIPS); #2: $p < 0,05$ (SO vs. PH, TIPS) und (PBL vs. PH); ANOVA-Test, Bonferroni Post-Hoc-Test)

Das Diagramm (Abb.13) stellt den zeitlichen Verlauf der Fibrinogen-Konzentration dar. Die präoperativen Ausgangswerte variierten von 6,1 bis 8,4 g/l zwischen den unterschiedlichen Gruppen. In den operierten Gruppen kam es zu einem sofortigen signifikanten Absinken der Konzentration gegenüber der SO-Gruppe. In der SO- und PBL-Gruppe kam es anschließend zu einem deutlichen Anstieg der Konzentration mit einem punctum maximum um 48 Stunden. Hierbei wurden mittlere Höchstkonzentrationen von bis zu 10 g/l in beiden Gruppen erreicht. In der Resektions- und TIPS-Gruppe fiel der Anstieg erheblich schwächer aus. Die Konzentrationen blieben die gesamte Versuchsdauer über signifikant erniedrigt gegenüber der PBL- und Schein-Op Gruppe. Hier wurde nur eine Konzentration von 6,7 g/l (± 2) in der PH-Gruppe nach 72 Stunden erreicht und von 5,4 g/l (± 1) in der TIPS-Gruppe.

4.2.4 Stoffwechsellendprodukte (Bilirubin)

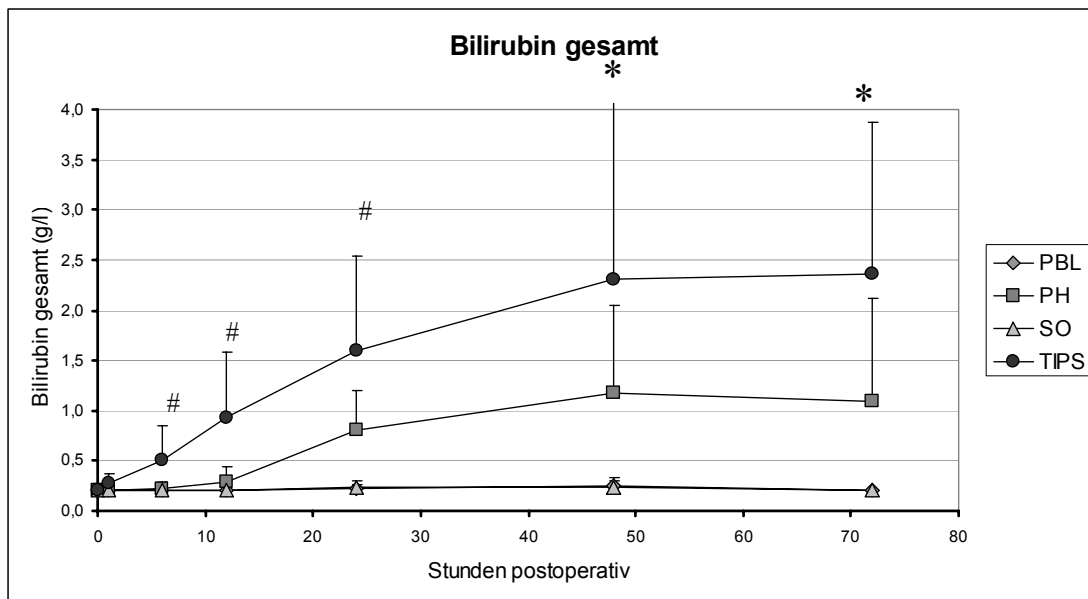


Abb. 14: Graphische Darstellung der Serumkonzentration des Gesamt-Bilirubins im Verlauf über 72 Stunden nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO). (*: $p < 0,05$ (TIPS vs. SO, PBL); #: $p < 0,05$ (TIPS vs. SO, PBL, PH); ANOVA-Test, Bonferroni Post-Hoc-Test)

Die Abbildung 14 zeigt die Bilirubinkonzentration im zeitlichen Verlauf. Der präoperative Ausgangswert der Konzentration des Gesamt-Bilirubins lag bei 0,2 g/l. In der scheinoperierten und in der ligierten Gruppe stieg die Bilirubinkonzentration zu keinem Zeitpunkt an. Nach Resektion stiegen die Bilirubinwerte bereits ab der 1-6 Stunde postoperativ an und erreichten ein punktum maximum nach 48-72 Stunden. Dabei wurde in der Resektionsgruppe ein mittlerer Höchstwert von 1,2 g/l ($\pm 0,9$) und in der TIPS-Gruppe sogar von 2,4 g/l ($\pm 1,5$) festgestellt. Damit lag die Bilirubinkonzentration in der TIPS-Gruppe bereits ab der sechsten postoperativen Stunde signifikant höher als in den anderen Gruppen. In der PH-Gruppe kam es zwar zu einem Anstieg, dieser war jedoch nicht signifikant gegenüber der SO- oder PBL-Gruppe.

4.3 Histomorphologische Auswertung

Zur Analyse der histomorphologischen Veränderungen an der Leber wurden Paraffinschnitte mit Haematoxylin-Eosin (HE-Färbung) bzw. Trichrom (Masson-Goldner-Färbung) angefärbt. Die HE-Färbung diente dabei als Übersichtsfärbung, die Trichrom-Färbung hingegen stellte spezifisch den Bindegewebsanteil dar. Beurteilt wurden die Verfettung, Nekrose, Entzündung und die Anzahl der Mitosen in den vier Operationsgruppen zu drei verschiedenen Zeitpunkten (0, 1 und 72 Stunden postoperativ).

4.3.1 Verfettung

Fettablagerungen in den Leberzellen haben unterschiedlichste Ursachen, zum Teil beruhen sie auf energetischer Insuffizienz der Epithelien, die endogen oder exogen bedingt sein kann; zum Teil gehen sie auf vermehrten Lipoidantransport, verminderten Abbau oder Mangel an Transportproteinen zurück.

Je nach Ausmaß der Fetteinlagerung (Zahl der betroffenen Hepatozyten) spricht man von einer geringen Verfettung (<10% der Hepatozyten sind verfettet), einer mittelgradigen Verfettung (10-30%) einer schweren Verfettung (31-50%) und von einer Fettleber (über 50%) (C. Thomas, Spezielle Pathologie; Schattauer-Verlag).

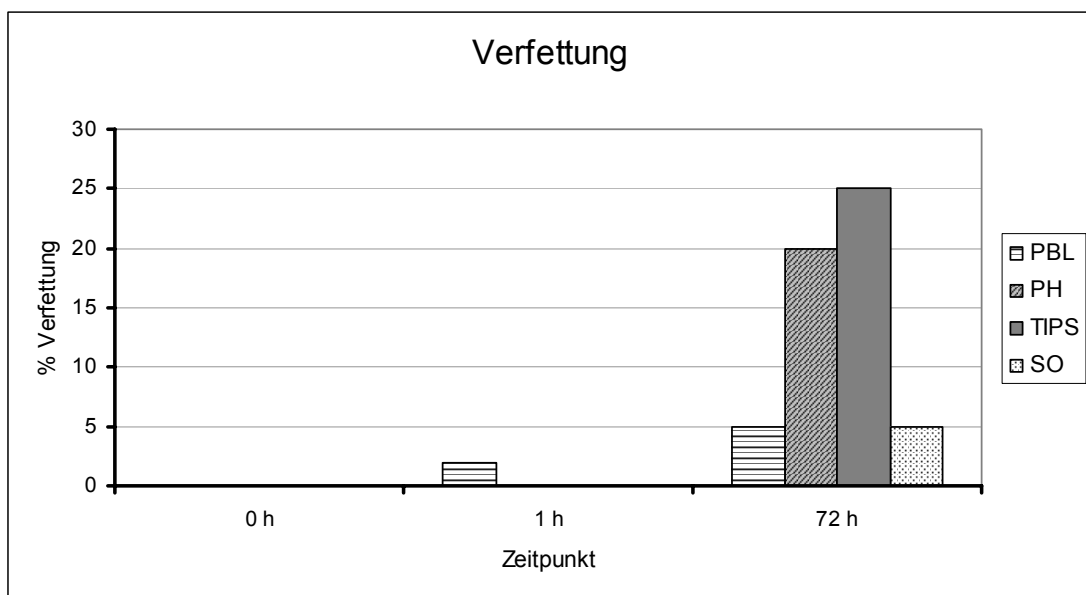


Abb. 15: Graphische Darstellung der Verfettung (in %) nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden.

Die Ergebnisse der geblindeten Auswertung der Verfettung (Abb.15) zeigen, dass der präoperative Ausgangswert in allen Gruppen bei 0% lag. Auch zum Zeitpunkt von 1 Stunde postoperativ war bis auf die PBL-Gruppe noch keine Verfettung in den histologischen Schnitten zu sehen. In der PBL-Gruppe ist der Anstieg der Verfettung durch ein einziges Tier bedingt, welches aus unerklärlichen Gründen zu diesem Zeitpunkt bereits eine Verfettung von 30% der Hepatozyten aufwies. Nach 72 Stunden war in allen vier Gruppen eine Verfettung nachzuweisen. In der Gruppe der scheinoperierten und der portal ligierten Tiere lag die Verfettung bei nur 5% und entsprach damit einer nur geringen Verfettung. In den Resektionsgruppen kam es dagegen zu einem starken Anstieg der Verfettung. In der PH-Gruppe lag die Verfettung im Mittel bei 20% der Hepatozyten und in der TIPS-Gruppe sogar bei 25% und entsprach dabei in beiden Gruppen einer mittelgradigen Verfettung. Trotz des deutlichen Anstiegs der Verfettung war der Unterschied zwischen den Resektionsgruppen gegenüber der SO- oder PBL-Gruppe statistisch nicht signifikant (ANOVA-Test).

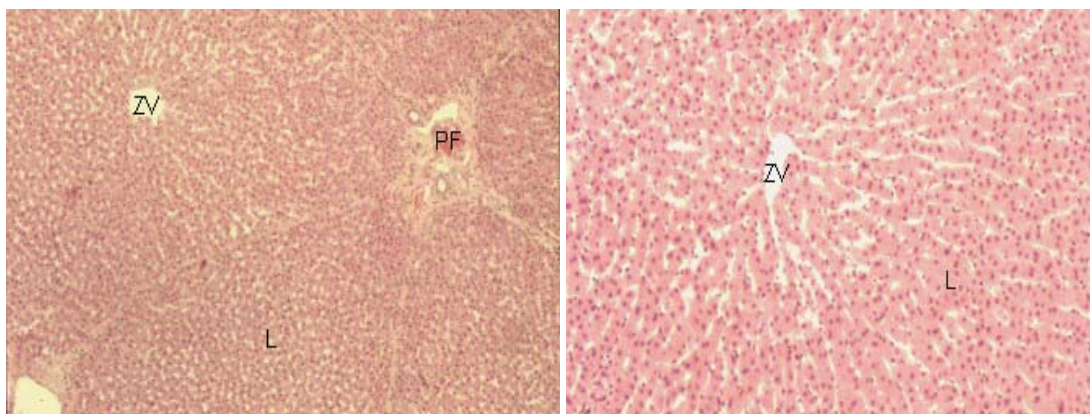


Abb. 16: Links und Rechts: Mikroskopisches Bild einer normalen Schweineleber zum Zeitpunkt 0 Stunden. (Links: 10 fache Vergrößerung; Rechts: 40 fache Vergrößerung)
(Haematoxilin-Eosin-Färbung; ZV= Zentralvene, L= Leberparenchym, PF= Portalfeld)

In Abbildung 16 ist exemplarisch eine normale Schweineleber zum Zeitpunkt 0 Stunden in verschiedenen Vergrößerungen gezeigt. Man kann gut die normale Architektur mit Portalfeld, Zentralvene und dazwischen liegenden Lebersinusoiden erkennen. Die Leberzellen und Sinusoide sind in etwa gleich groß und man sieht keinerlei Fetttropfchen, Nekrosen oder Entzündungszellen.

Nach 72 Stunden (Abb.17) sind Veränderungen am Lebergewebe deutlich zu erkennen. Bei den Tieren mit portaler Ligatur sieht man einen leichten Blutstau, zu

erkennen an den Erythrozyten in den Sinusoiden. Außerdem sieht man einige Fetttröpfchen in den Hepatozyten, sowie mehrere Entzündungszellen in den Sinusoiden.

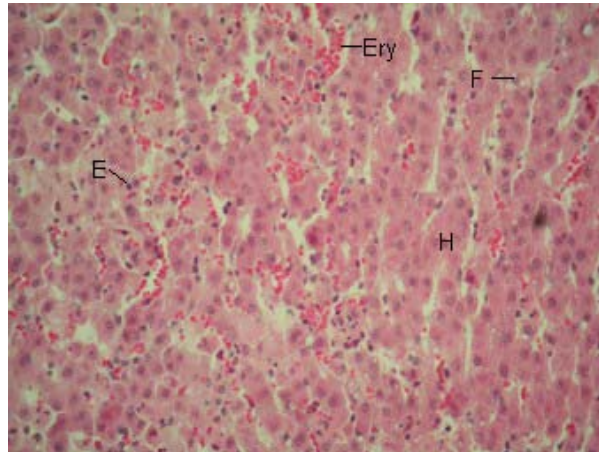


Abb. 17: Mikroskopisches Bild einer leicht verfetteten Schweineleber; PBL-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (60 fache Vergrößerung)
(HE-Fbg.; Ery= Erythrozyten, F= Fetttröpfen, E= Entzündungszellen, H= Hepatozyten)

In den histologischen Schnitten der Resektionstiere (mit und ohne TIPS) sieht man nach 72 Stunden (Abb.18) eine deutliche Verfettung des Lebergewebes. In der geringeren Vergrößerung (40 fach) ist die Verfettung gut an den hellen Bezirken zwischen den rosa eingefärbten Hepatozyten zu erkennen.

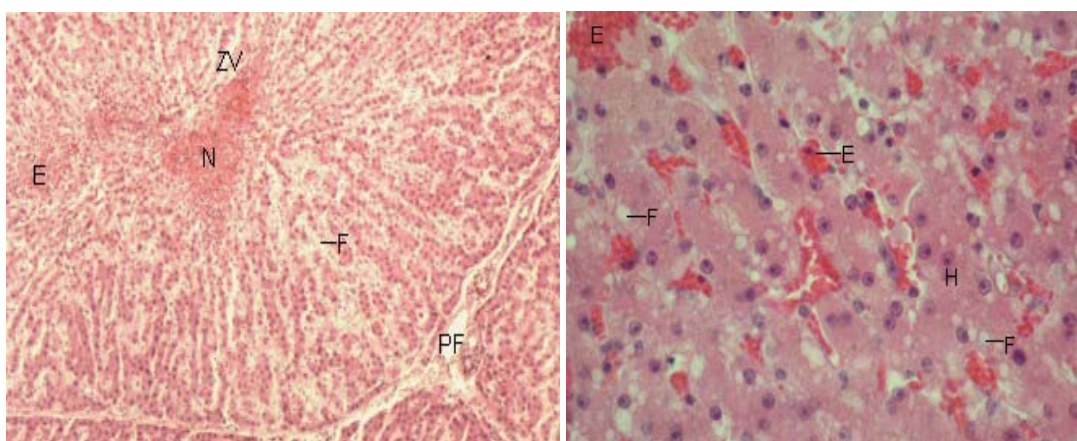


Abb. 18: Links: Mikroskopisches Bild einer stark verfetteten Schweineleber; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (40 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)
Rechts: Mikroskopisches Bild einer stark verfetteten Schweineleber; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)
(E= Entzündung, F= Fetttröpfen, ZV= Zentralvene, N= Nekrose, PF= Portalfeld, H= Hepatozyt)

Außerdem erkennt man in der Nähe der Zentralvene mehrere unterschiedlich große Nekrosen mit umgebender Entzündungsreaktion. In der größeren Vergrößerung sieht man deutlich die Fettvakuolen in den Hepatozyten und die Erythrozyten dazwischen.

4.3.2 Nekrose

Die gemittelten Werte der Lebernekrosen der verschiedenen Operationsgruppen sind in Abbildung 19 dargestellt.

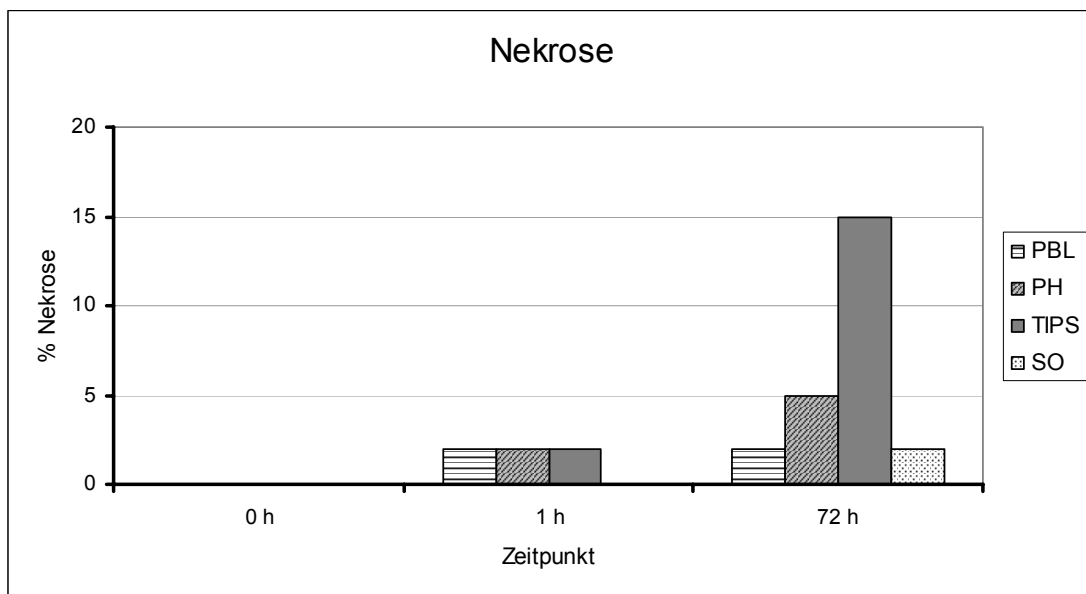


Abb. 19: Graphische Darstellung der Nekrosen (in %) nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden.

Der präoperative Ausgangswert lag in allen Gruppen bei 0%. Eine Stunde postoperativ traten in allen Gruppen, die einer Operation unterzogen wurden, ein geringes Maß an Nekrosen auf (ca.2% der Hepatozyten). In der Scheinoperationsgruppe waren diese nach einer Stunde noch nicht zu sehen. Nach 72 Stunden waren in allen vier Gruppen Nekrosen nachzuweisen. In der Gruppe der scheinoperierten und der portal ligierten Tiere handelte es sich hauptsächlich um Einzelzellnekrosen oder einzeln vorkommende kleine Nekroseherde, so dass es sich um nicht mehr als 2% des Lebergewebes des Schnittes handelte. In der Resektionsgruppe kam es zu einem geringen Anstieg der Nekroseflächen auf etwa 5%. In der TIPS-Gruppe dagegen fiel eine große Anzahl massiver Nekrosen auf, so dass hier im Mittel 15% der Hepatozyten vom Gewebeuntergang betroffen waren. Zwischen den

unterschiedlichen Operationsgruppen kam es damit statistisch gesehen zu keinem signifikanten Unterschied (ANOVA-Test).

Die mikroskopisch deskriptive Auswertung zeigt eine Stunde postoperativ in den histologischen Schnitten der Resektionstiere mit und ohne TIPS vereinzelte im Gewebe liegende Leberzellnekrosen (Abb.20). Diese sind disseminiert über das gesamte Leberläppchen verteilt und lassen sich keinem bestimmten Nekrosetyp zuordnen. In der stärkeren Vergrößerung ist schön der leukozytäre Abbau einzelner Hepatozyten zu erkennen (Abb.21).

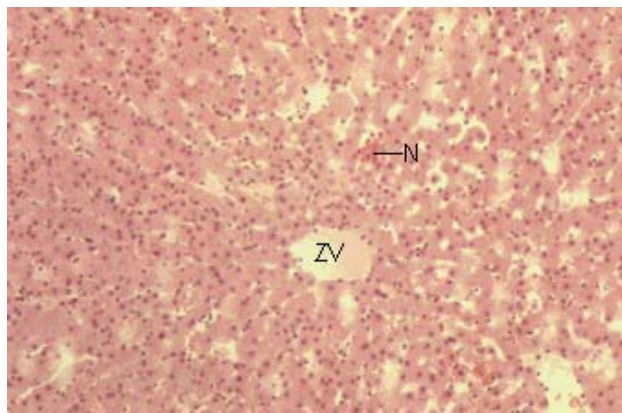


Abb. 20: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit einzelner Nekrose; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (40 fache Vergrößerung; HE-Fbg.; ZV= Zentralvene, N= Nekrose)

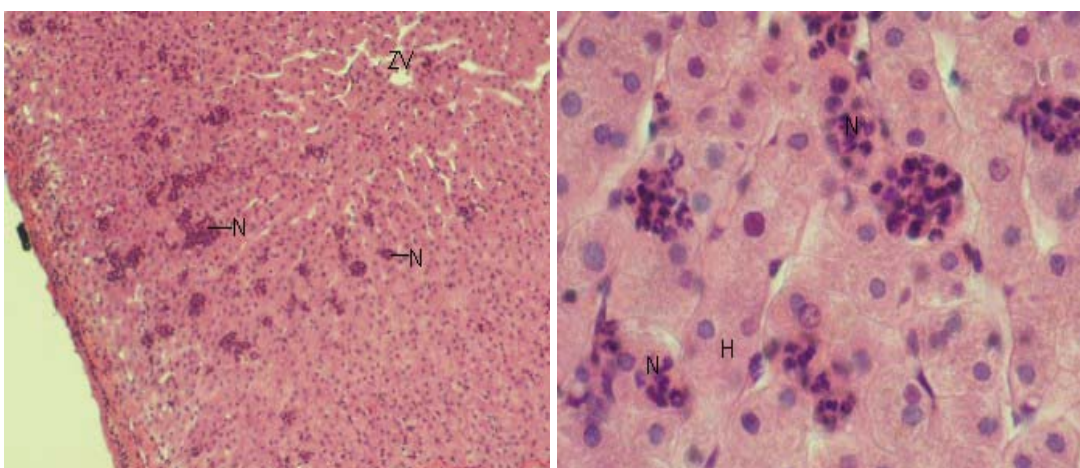


Abb. 21: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit vereinzelten Nekrosen und Entzündungszellen ; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (20 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)
Rechts: Stärkere Vergrößerung. (120 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)
(ZV= Zentralvene, N= Nekrosen, H= Hepatozyten)

Auf dem histologischen Bild (Abb.22, links) eines Resektionstieres ohne TIPS zum Zeitpunkt 72 Stunden sieht man zwei ausgedehnte, scharf begrenzte, aber unregelmäßig verteilte Koagulationsnekrosen. Das restliche Leberparenchym zeigt deutlich erweiterte Sinusoide sowie einen Verlust der trabekulären Anordnung. In den nekrotischen Bereichen kommt es zu einer vermehrten Erythrozytenansammlung.

Auf der Übersichtsaufnahme eines TIPS-Tieres nach 72 Stunden (Abb.22, rechts) sieht man eine deutliche Vermehrung der Blutfülle (orangerot gefärbte Erythrozyten beherrschen das Bild). Nur noch in der Umgebung der Portalfelder ist erhaltenes, trabekulär gestaltetes Leberparenchym nachweisbar. Läppchenzentral zeigt sich ein weitgehender Verlust des Leberparenchyms im Bereich der Blutstauung.

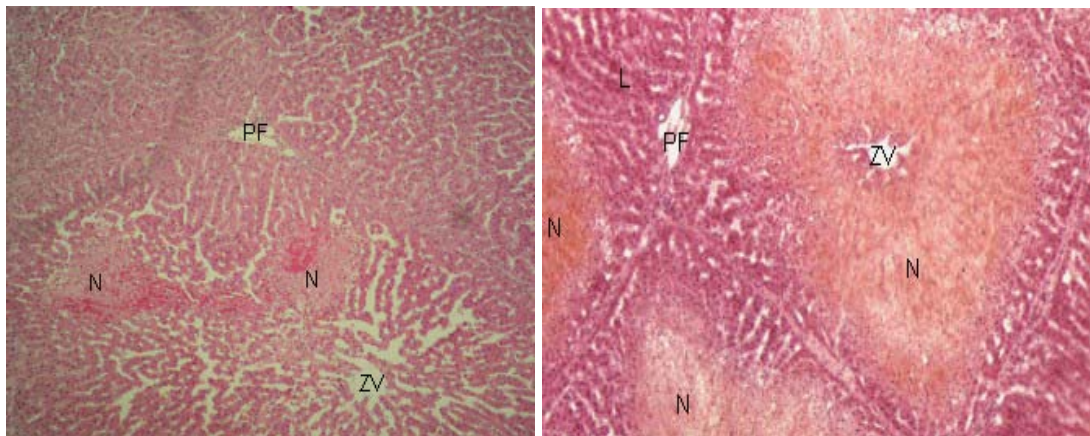


Abb. 22: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit zwei größeren Nekrosen ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunde. (20 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)

Rechts: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit massiven Nekrosen und Blutstau ; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunde. (20 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)

(ZV= Zentralvene, N= Nekrosen, PF= Portalfeld, L= erhaltenes Leberparenchym)

4.3.3 Entzündung

Die Entzündung ist die Reaktion des Organismus auf die Einwirkung einer schädigenden Noxe. Sie hat zunächst zum Ziel, diese Noxe zu beseitigen und den gesetzten Schaden zu begrenzen, später die veränderten oder nekrotischen Zellen abzuräumen und durch Parenchym bzw. durch eine Narbe zu ersetzen. Somit ist die Entzündung selbst zunächst kein schädigender Prozess; im Rahmen dieser Körperreaktion kann es aber zu schweren morphologischen und funktionellen Störungen kommen.

In der Abbildung 23 sind die gemittelten Werte der Entzündung der verschiedenen Operationsgruppen im Verlauf dargestellt. Zur besseren Klassifizierung wurde ein „Histo-Score“ von 0-4 verwendet. 0 entspricht dabei keinen Entzündungszeichen, 1 einer minimalen, 2 einer geringen, 3 einer mäßigen und 4 einer starken Entzündungsreaktion.

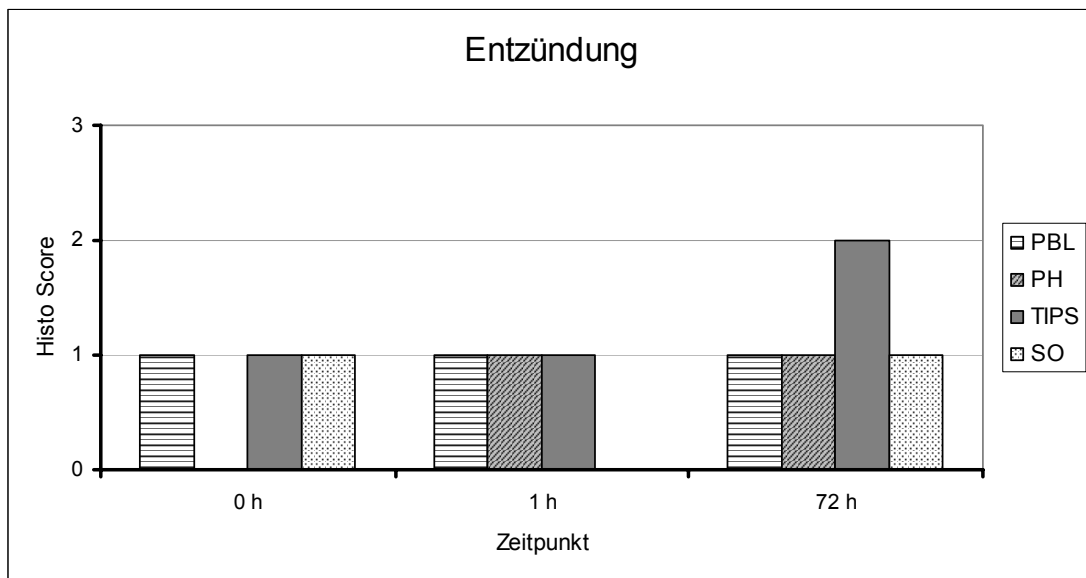


Abb. 23: Graphische Darstellung der Entzündungsreaktion (Histo-Score) nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden.

Der präoperative Ausgangswert lag in allen Gruppen zwischen 0 und 1 und wies damit schon vor Operationsbeginn eine minimale Entzündungsreaktion in Form von einzelnen im Gewebe verteilten Entzündungszellen auf

Eine Stunde postoperativ war in keiner Gruppe eine Vermehrung der Entzündungsreaktion zu beobachten. Auch nach 72 Stunden änderte sich das histologische Bild in Bezug auf die Entzündung nicht wesentlich. Nur in der TIPS-Gruppe war eine leichte Zunahme von einer minimalen („Histo-Score“ 1) auf eine geringe Entzündungsreaktion („Histo-Score“ 2) zu verzeichnen. In den anderen drei Gruppen blieb es bei einer minimalen Entzündungsreaktion. Damit kam es in keiner der Operationsgruppen zu einem signifikanten Anstieg der Entzündungsreaktion (ANOVA-Test).

Die deskriptive mikroskopische Auswertung zeigt eine Stunde postoperativ eine minimale entzündliche Infiltration des gesamten Leberläppchens (Abb.24).

Besonders in der Läppchenperipherie, sowie um die Portalfelder sieht man eine leichte Anhäufung von Entzündungszellen. Dabei macht es keinen Unterschied, welcher Operation das Tier zuvor unterzogen wurde.

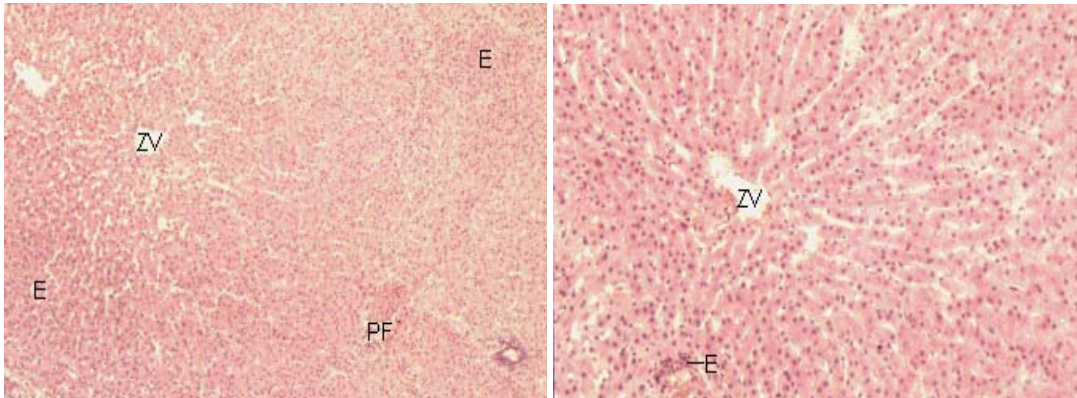


Abb. 24: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit Regionen vermehrter Entzündungszellen; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (10 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)
 Rechts: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit kleinem Entzündungsherd; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (40 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)
 (ZV= Zentralvene, PF= Portalfeld, E= Entzündungszellen)

Nach 72 Stunden (Abb.25) sieht man besonders im Randbereich der Nekrosen vermehrt Entzündungszellen. So befinden sich rund um die Einzelzellnekrosen der portal ligierten Tiere Entzündungszellen sowie auch um die massiven Nekrosen der TIPS-Tiere. Dabei korreliert das Maß der Entzündung mit dem des zerstörten Gewebes.

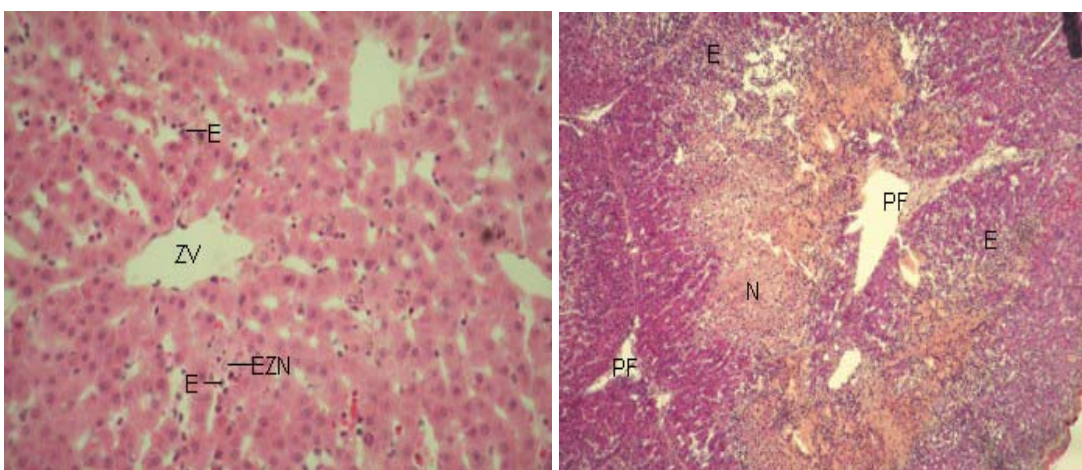


Abb. 25: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit Einzelzellnekrosen und mehreren Entzündungszellen; PBL-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunde. (60 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)
 Rechts: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit massiven Einblutungen, Nekrosen und Entzündungsreaktion; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunde. (20 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)
 (ZV= Zentralvene, EZN= Einzelzellnekrose, PF= Portalfeld, E= Entzündungszellen, N= Nekrosen)

4.3.4 Mitose

Die Leber stellt ein Musterbeispiel für die Regenerationsvorgänge an parenchymatösen Organen dar. Besondere Bedeutung hat hier das Studium der Regenerationsvorgänge bei der Ratte nach Entfernung von einem Teil der Leber erlangt. Dabei zeigt sich, dass bereits nach wenigen Stunden in der Restleber eine Steigerung der RNS-Synthese einsetzt, der dann rund 16 Stunden nach Leberverlust eine DNS-Synthese-Welle folgt - mit nachfolgender mitotischer Zellteilung

Die gemittelten Werte der Mitosen der verschiedenen Operationsgruppen sind in der Abbildung 26 dargestellt.

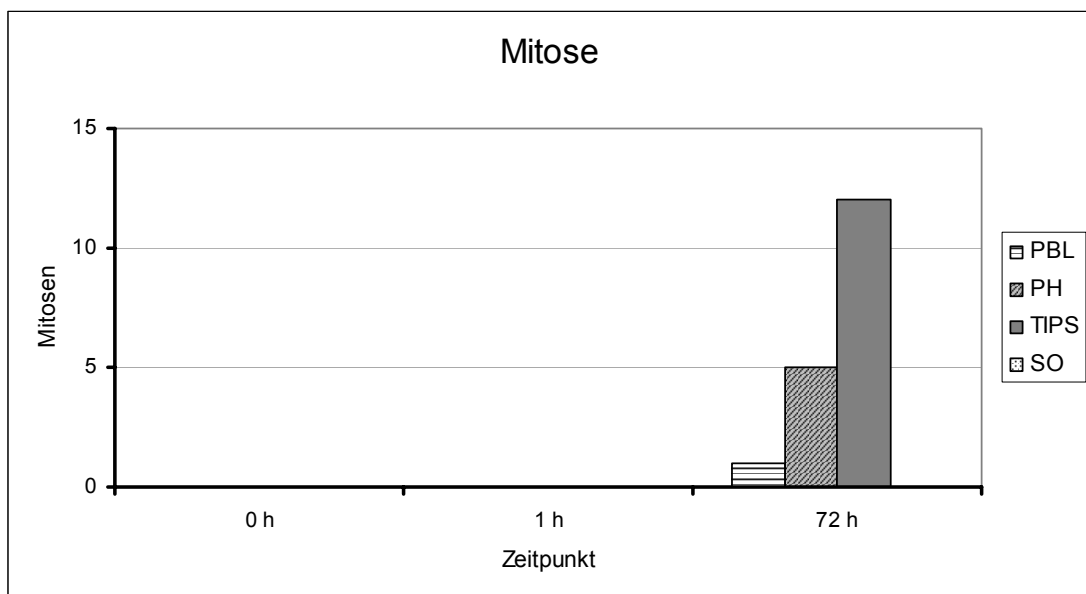


Abb. 26: Graphische Darstellung der Mitosen nach Pfortaderastligatur (PBL), Resektion (PH), Resektion + TIPS (TIPS) und Scheinoperation (SO) zu den Zeitpunkten 0, 1 und 72 Stunden.

Der präoperative Ausgangswert lag in allen Gruppen bei 0 Mitosen in 10 gezählten Gesichtsfeldern. Auch zum Zeitpunkt von 1 Stunde postoperativ waren im Mittel noch keine Mitosen in den verschiedenen Gruppen zu sehen. Nach 72 Stunden waren in allen operierten Gruppen Mitosen zu sehen, in der Gruppe der scheinoperierten Tiere dagegen nicht. In der Gruppe der portal ligierten Tiere wurde im Mittel nur eine Mitose in den ausgezählten Gesichtsfeldern gesehen. In der PH-Gruppe lag die Mitoserate im Mittel bei 5 Stück und in der TIPS-Gruppe bei 12. Zwischen den vier Operationsgruppen kam es damit statistisch gesehen zu keinem signifikanten Unterschied (ANOVA-Test).

Die Abbildung 27 zeigt exemplarisch Mitosen zum Zeitpunkt 72 Stunden in verschiedenen Vergrößerungen.

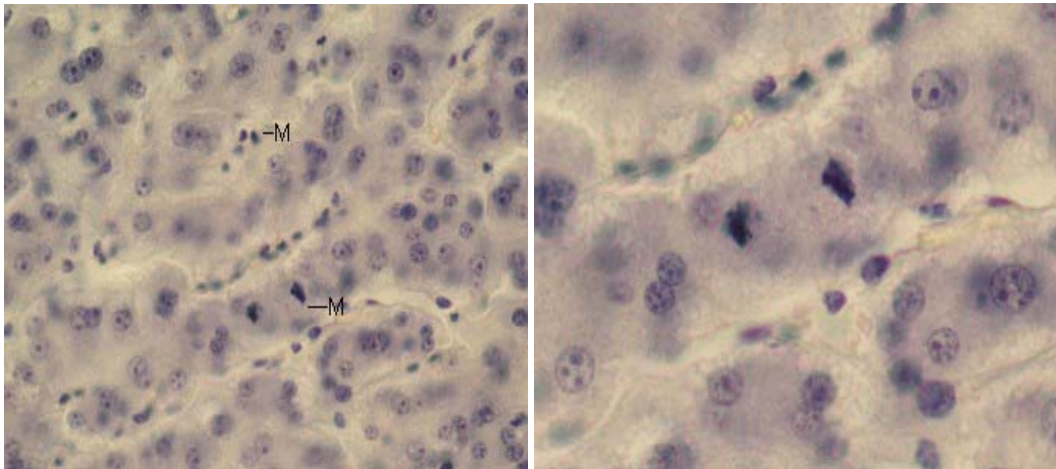


Abb. 27: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber mit zwei Mitosen; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; HE-Fbg.; M= Mitose)
Rechts: stärkere Vergrößerung (150 fache Vergrößerung; HE-Fbg.)

4.4 Semidünnschnitte

In den mit Toluidinblau / Pyronin G gefärbten Semidünnschnitten sind Verfettung, Nekrose, Entzündung und Mitosen noch besser sichtbar als in den Übersichtsfärbungen mit Hämatoxylin-Eosin.

So zeigt die normale Schweineleber zum Zeitpunkt 0 Stunden und die der Tiere nach Scheinoperation zum Zeitpunkt 72 Stunden zwei Arten von verschieden stark eingefärbten Hepatozyten (Abb.28).

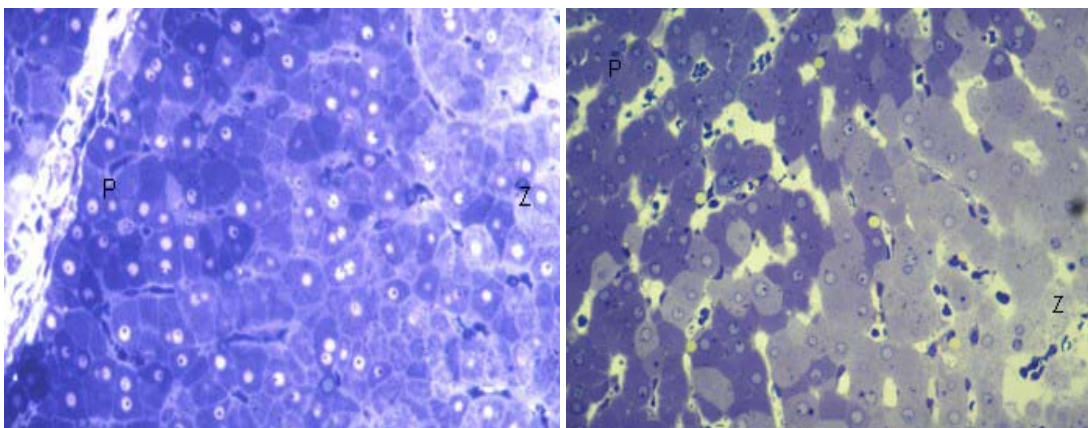


Abb. 28: Links: Mikroskopisches Bild einer normalen Schweineleber; SO-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)
Rechts: normale Schweineleber ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 0 Stunden (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.; P= Peripher, Z= Zentral)

Dabei liegen die dunkleren Zellen nahe dem Portalfeld lokalisiert und die hellen Zellen eher zentral. Die unterschiedlichen Farben beruhen dabei wahrscheinlich auf einer unterschiedlichen Dichte des endoplasmatischen Retikulums und lassen auf unterschiedliche metabolische Zustände der Zelle schließen. Das Verteilungsmuster der Zellen von läppchenperipher nach läppchenzentral beruht dabei auf dem normalen Sauerstoffgradienten, der nach zentral hin abfällt.

In den Resektionsgruppen mit und ohne TIPS ändert sich das Verteilungsmuster der verschiedenfarbigen Hepatozyten (Abb.29). Sie verlieren den geschichteten Aufbau von peripher nach zentral und liegen nun mehr mosaikartig in kleinen Gruppen im gesamten Leberläppchen verteilt. Außerdem sieht man deutliche Größenunterschiede zwischen den einzelnen Zellen. Auch dieses könnte ein Hinweis für unterschiedliche funktionelle Zustände der Zelle sein.

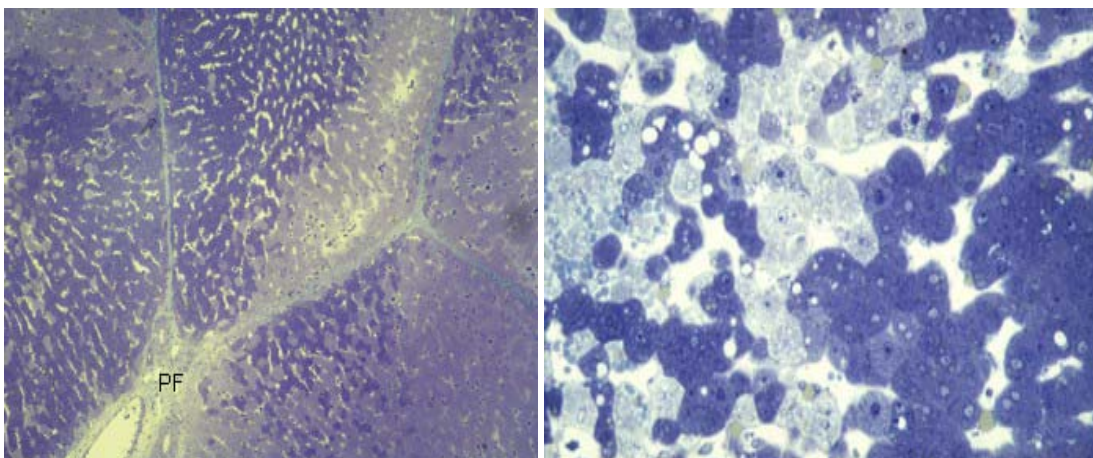


Abb. 29: Links: Mikroskopisches Bild einer Schweineleber; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunden. (40 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.; PF= Portalfeld)
Rechts: Schweineleber mit unterschiedlich farbigen Hepatozyten ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)

In allen Gruppen, in denen die Tiere einer Operation unterzogen wurden, kommt es zu einer vermehrten Vakuolisierung und damit Verfettung der Hepatozyten (Abb.30 und 31). Dabei zeigen die portal ligierten Tiere im Schnitt eine geringere Verfettung als die Resektionstiere oder TIPS-Tiere.

Die Verfettung beginnt als leichte Vakuolisierung am Rand des Hepatozyten und schreitet so weit fort, bis der gesamte Hepatozyt von Fettvakuolen ausgefüllt ist. Dabei fällt auf, dass die helleren Zellen leichter zur Verfettung neigen als die dunkleren. Die Verfettung kann dabei je nach Ausprägung als Anhäufung von

Baumaterial bei Regeneration als auch als Beginn einer fettigen Degeneration der Zelle gesehen werden.

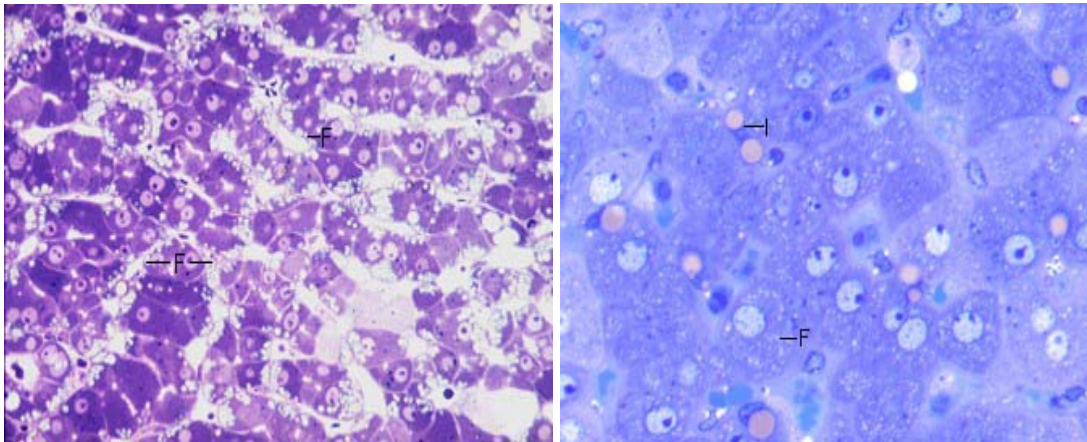


Abb. 30: Links: leichte Verfettung im Randbereich der Hepatozyten; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)

Rechts: mittelgradige Verfettung der Hepatozyten und Ito-Zellen mit großen Fettvakuolen; PBL-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (120 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)

(F= Fettvakuolen, I= Ito-Zelle)

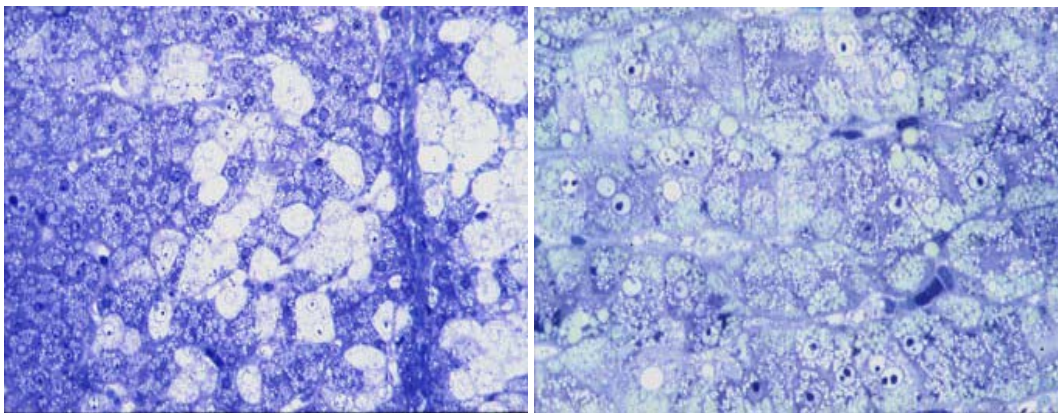


Abb. 31: Links: starke Verfettung besonders der hellen Hepatozyten ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)

Rechts: massive Verfettung der Hepatozyten ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)

In den Resektionsgruppen kommt es gehäuft noch zu weiteren Phänomenen. Einige histologische Schnitte zeigten Areale mit erweiterten, blutgefüllten Sinusoiden sowie eine starke Verfettung der Hepatozyten und einen Gallestau (Abb.32). Daraus lässt sich am ehesten schließen, dass es bei diesen Tieren zu einer Abflussstörung gekommen ist und der normale Abtransport der Stoffwechselprodukte nicht mehr

möglich war. Dieses führt bei Persistenz der schlechten Stoffwechsellaage zur Degeneration der Hepatozyten.

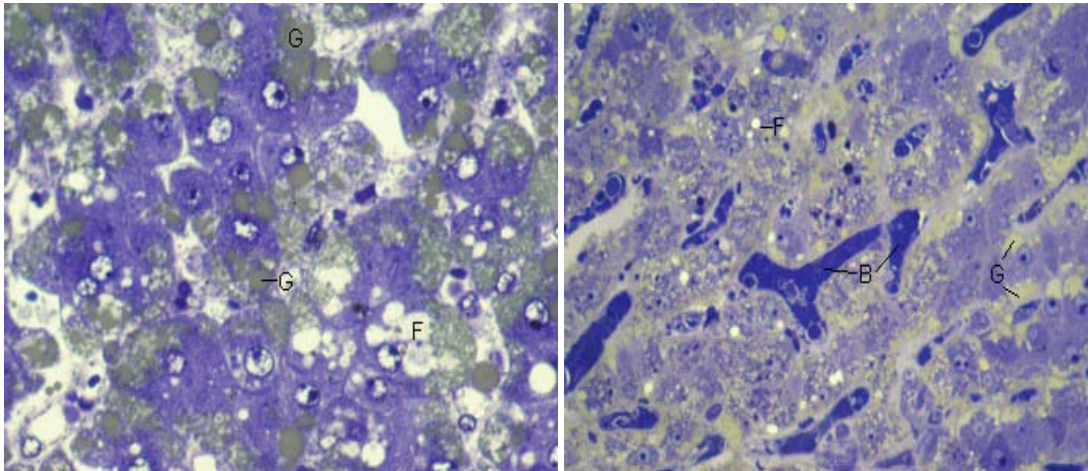


Abb. 32: Links: Abflussstörung mit Gallestau und Verfettung ; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (120 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)
Rechts: Blutstau, Gallestau und Verfettung ; PH-Gruppe zum Zeitpunkt 72 Stunden. (60 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.; G= Galle, F= Fett, B= Blutstau)

In anderen Schnitten konnten entzündliche Reaktionen und Zelluntergang beobachtet werden (Abb.33). So sah man Bereiche mit starker leukozytärer Infiltration und hellen, vakuolisierten Zellen, die wahrscheinlich gerade degenerieren. Durch den Zelluntergang wurden Entzündungszellen angezogen, die in das Gebiet einwanderten, um die degenerierten Zellen abzubauen und den entstandenen Schaden zu reparieren.

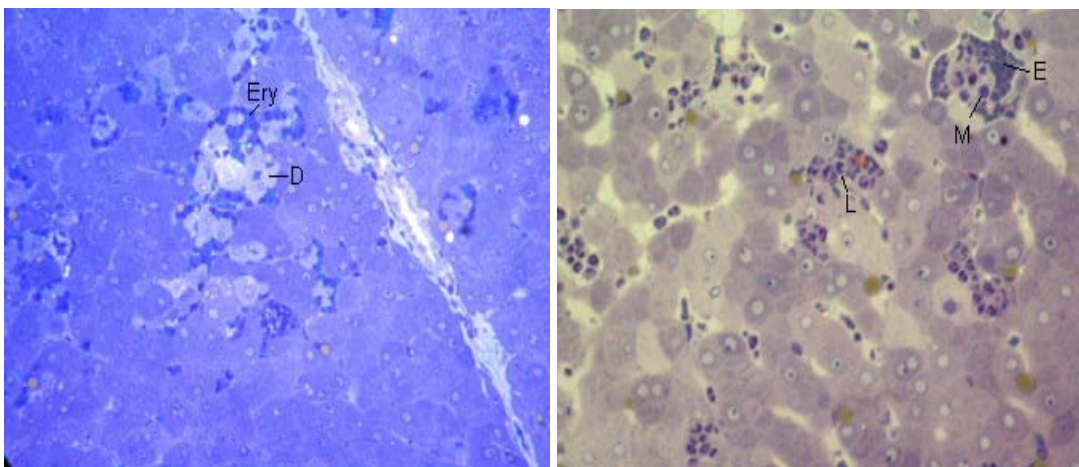


Abb. 33: Links: Blutstau und degenerierende Hepatozyten ; PBL-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (100 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)
Rechts: Einzelzellnekrose mit Entzündungsreaktion ; TIPS-Gruppe zum Zeitpunkt 1 Stunde. (120 fache Vergrößerung; Toluidinblau/Pyronin G-Fbg.)
(D= degenerierende Hepatozyten, Ery= Erythrozyten, M= Monozyt, L= Leukozyt)

5. Diskussion

5.1 Diskussion der Methodik

In der vorliegenden Studie wurde anhand eines Großtiermodells am Minipig die Auswirkung einer kritischen Leberresektion auf laborchemische Leberfunktions- und Schädigungsparameter sowie auf histologische Veränderungen der Leber hin untersucht. Das verwendete Minipigmodell hat als Grundlage zur kritischen Leberresektion dahingehend seine Gültigkeit unter Beweis gestellt, dass 33 % der Tiere, die einer Leberresektion ohne TIPS unterzogen und mit in die Auswertung einbezogen wurden, vor Erreichen des dritten postoperativen Tages gestorben sind. Die Hypothese, dass als Todesursache ein ursächlicher Zusammenhang mit verminderter Syntheseleistung besteht, wird auch dadurch unterstützt, dass diese Tiere keinen übermäßigen Blutverlust intraoperativ aufwiesen und dass sie nach dem Versterben obduziert wurden, wobei sich intraabdominell ebenfalls kein Anhalt für Blutungen fand, jedoch sich auffällige makroskopische Veränderungen der Leber zeigten. Die genaue Todesursache verbleibt jedoch hypothetisch. Ein Frühversterben nach partieller Hepatektomie und TIPS-Anlage ist ebenfalls in 33% beobachtet worden, auch hier legt der klinische Verlauf und der Befund nach Eröffnung der verstorbenen Tiere einen ursächlichen Zusammenhang mit der Leberresektion nahe. Unerwartetes Versterben nach Pfortaderligatur und Scheinoperation wurde nicht beobachtet. Anhand des Quick-Verlaufes, dem Faktor V sowie der verminderten Konzentration von C-reaktiven Protein und Fibrinogen lässt sich darüber hinaus ablesen, dass es nach Leberresektion mit und ohne TIPS zu einer erheblichen hepatischen Funktionsminderung gekommen ist. In den Übersichtshistologien der entnommenen Lebern drei Tage nach Operation wurden nach Resektion darüber hinaus Verfettungen, Nekrosen, gleichzeitig aber auch vermehrt Mitosen beobachtet. Makroskopisch imponierte eine Restleber nach Resektion nach drei Tagen als gelblich verfärbt und ödematös geschwollen. Zusammen genommen scheint also das verwendete Großtiermodell, bei dem 75 % der Lebermasse entfernt wurde, ein gutes Modell zum Vergleich zur erweiterten Leberresektion im Menschen zu sein. Die im Minipig-Modell beobachteten Veränderungen wie Verfettung, Nekrosen, Ödeme und verminderte laborchemisch erfassbare Leberfunktionen wurden ebenso im Rahmen des *small-for-size* Syndroms nach Lebertransplantationen beobachtet (Tucker 2005) sowie bei erweiterten Hemihepatektomien in unterschiedlicher Ausprägung (Eguchi

2000; Nagino 1993). Als Einschränkung zur Vergleichbarkeit unseres Modells mit der humanen Situation ist allerdings zu nennen, dass wir keine intensivmedizinische Überwachung der Minipigs durchführen konnten, dass keine Bluttransfusionen und Plasmatransfusionen zur Substitution der verminderten Synthese von Gerinnungsfaktoren durchgeführt werden konnten und dass keine Elektrolytmessungen erfolgten. Unsere beobachtete Mortalität spiegelt somit eher den natürlichen Verlauf nach 75 %iger Hemihepatektomie wieder und lässt keine direkten Rückschlüsse auf die Situation in der Klinik zu, wo durch Intensivmedizin gegebenenfalls andere Ergebnisse zu erwarten wären. Im Gegensatz zur Analyse klinischer Daten hat das verwendete Minipig-Modell jedoch den eindeutigen Vorteil, dass systematisch Blut- und Gewebeproben entnommen werden und diese im größeren Kollektiv statistisch ausgewertet werden konnten. Eine serielle Leberbiopsie nach erweiterter Leberresektion oder *small-for-size* Transplantation ist klinisch bisher aus ethischen Gründen nicht durchgeführt worden, so dass die tatsächlichen morphologischen Veränderungen nach kritischen Leberresektionen bislang hauptsächlich anhand einzelner Fallberichte, inhomogener Patientenkollektive oder anhand von Kleintiermodellen beschrieben werden konnten. (Topaloglu 2005). In Bezug auf die Durchführung der portalen Dekompression mittels TIPS muss hierbei angemerkt werden, dass die Durchführung des Verfahrens mit erheblichen technischen Schwierigkeiten verbunden war, so dass eine eindeutige Aussage hinsichtlich der Effektivität einer portalen Dekompression zur Verminderung der hepatozellulären Schädigung nach Leberresektion nur eingeschränkt möglich ist. Die Tatsache, dass in der Mehrzahl der Fälle nach drei Tagen ein Verschluss des TIPS festzustellen war, ohne dass der genaue Zeitpunkt des Verschlusses retrospektiv erhebbbar war, schränken die Analysen ein. Aus diesem Grund sollte die Beobachtung, dass in der TIPS-Gruppe im Vergleich zur partiellen Hepatektomiegruppe vermehrt Mitosen in der Restleber zu beobachten waren, vor diesem Hintergrund berücksichtigt werden. Es ist aber auf der anderen Seite auch nicht auszuschließen, dass gerade eine frühe portale Dekompression, die unmittelbar nach partieller Hepatektomie vielleicht nur für wenige Stunden anhält, ebenfalls einen erheblichen fördernden Effekt auf die Leber haben könnte. Somit könnte auch die vermehrte Mitoserate in der TIPS-Gruppe auf eine frühe Gewebeprotektion durch portale Dekompression zurückzuführen sein.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

In der Tabelle im Ergebnissteil 4.1 ist die 35 Stunden bzw. die 72 Stunden Überlebensrate der Tiere nach den unterschiedlichen Operationstechniken aufgezeigt. Hier zeigt sich deutlich, dass es nach Pfortaderastligatur zu keiner Mortalität kam, im Vergleich jedoch zeigt sich eine konstante Früh- und Spätmortalität nach Resektion bzw. nach Resektion und TIPS im Vergleich zur Scheinoperation. Abgesehen von den Tieren, die aufgrund von technischen Schwierigkeiten wie Blutverlust und frühem postoperativen Versterben durch Narkose aus der späteren Auswertung der Laborparameter und Histologien genommen wurden, findet sich in der Resektions- und TIPS-Gruppe ein signifikanter Anteil solcher Tiere, welche aus anderen Ursachen postoperativ vor Erreichen von 72 Stunden verstorben sind. Betrachtet man hierzu die postoperativen Verläufe der AST, ALT, der GLDH, des Albuminwerts, des Quick-Werts und des Faktor V, so zeigt sich eine signifikant erhöhte Aktivität der Transaminasen in den Resektionsgruppen im Vergleich zur Scheinoperation und zur Ligaturgruppe sowie eine signifikante Verminderung der untersuchten Leberfunktionsparameter. Im Vergleich zu den Resektionsgruppen sind die Veränderungen, die nach Pfortaderligatur beobachtet werden, eher gering ausgeprägt. Zwar finden sich nach PBL geringgradig erhöhte Transaminasen (AST (Abb. 5) und ALT (Abb. 6)), dennoch sind diese Veränderungen gegenüber der Scheinoperationsgruppe statistisch nicht signifikant. Auch die GLDH (Abb. 7) ist nach PBL erhöht, jedoch ohne statistische Signifikanz zu erreichen. Eine signifikante Funktionseinschränkung nach PBL, gemessen anhand des Quick-Wertes (Abb.10), dem Faktor V (Abb. 11), dem Albumin- und Fibrinogengehaltes (Abb. 9 und 13) war ebenfalls nicht zu verzeichnen. Diese Beobachtung unterstreicht, dass zwischen beiden Leberregenerationsmodellen, das heißt dem Resektionsmodell und dem Pfortaderligaturmodell, hinsichtlich der systemisch messbaren Leberschädigungs- und Leberfunktionsparametern deutlich unterschiedliche Verhältnisse vorliegen. Hieraus ist zu schließen, dass das verringerte Lebervolumen nach Leberresektion die entscheidende Determinante der systemischen Leberfunktion darstellt. Somit sind beide Regenerationsmodelle, das PBL-Modell und das Resektionsmodell unter deutlich verschiedenen pathophysiologischen Grundbedingungen anzusehen. Betrachtet man den Grad der Verfettung der Restleber nach Leberresektion bzw. Leberresektion und TIPS im Vergleich zum nicht ligierten Lappen nach PBL, so

zeigt sich auch hier eine deutlich stärkere Verfettung (Abb.15) nach Resektion. Ebenso findet sich in den Resektionsgruppen ein größerer Anteil nekrotischen Gewebes (Abb.19) als nach PBL. Bezogen auf die inflammatorisch entzündlichen Veränderungen (Abb. 23) des Gewebes fallen hier weniger deutliche Unterschiede auf, es fand sich jedoch ein erhöhter Entzündungsscore zum Zeitpunkt 72 Stunden nach Resektion und TIPS im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen. Vergleicht man nun die Rate der Mitosen (Abb. 26) zwischen den Gruppen, so fallen deutlich mehr Mitosen in den Resektionsgruppen auf als nach PBL. Zusammengenommen würden diese Beobachtungen die Hypothese zulassen, dass eine verstärkte Leberschädigung, eine verminderte Leberfunktion und eine größere Schädigung des Organismus mit einer erhöhten Leberregenerationstendenz assoziiert bzw. vereinbar ist. Oder anders ausgedrückt: Das Ausmaß der Leberregeneration korreliert mit dem Ausmaß der Leberschädigung.

Während dieser Zusammenhang noch nicht systematisch an einem Resektionsmodell am Großtier untersucht wurde, liegen aus der Literatur auf Grundlage von Kleintiermodellen Daten vor, die diesen Zusammenhang bestätigen. So konnten Tygstrup et al. 2002 zeigen, dass nach einer subletalen Hepatektomie der Ratte im Vergleich zu einer nicht letalen Hepatektomie vermehrt regenerationsassoziierte Faktoren induziert wurden. Ähnliche Beobachtungen konnten von Panis et al. 1998 publiziert werden.

Eine Assoziation von Leberverfettung und Regeneration im Hepatektomiemodell des Kleintieres ist seit längerem bekannt. So konnten Bocchetta et al. 1993 zeigen, dass die Restleber nach Hepatektomie der Ratte verfettet ist. Zur pathophysiologischen Bedeutung dieser Verfettung wurden unterschiedliche Hypothesen aufgestellt. Tijburg konnte 1991 zeigen, dass es nach partieller Hepatektomie zu einem 4fach höheren Anstieg von Triacylglycerol im Vergleich zur Scheinoperation kam. Bocchetta konnte 1993 zeigen, dass es nach Hepatektomie zu einer vermehrten Synthese des LDL-Rezeptors (low density lipoprotein) in den Hepatozyten kam, was wiederum dafür sprechen könnte, dass die Hepatozyten über diesen Mechanismus Zellmembranbestandteile generieren. Ebenso wurde eine Re-Expression der Lipoprotein-Lipase (LPL) sowie eine erhöhte Aktivität dieses Enzyms in der Leber nach partieller Hepatektomie gefunden (Sabugal 1996). Shteyer et al. konnten 2004 zeigen, dass es während der frühen Leberregeneration zu einer Aktivierung bestimmter fettassoziiierter Gene kommt. Gleichzeitig ist jedoch auch eine

verminderte Expression von leberfunktions-assoziierten Proteinen nach Hepatektomie beschrieben worden. Fulop et al. beobachteten 2001, dass die Expression von positiven Akute-Phase-Proteinen wie beispielsweise Fibrinogen, Alpha(2)-makroglobulin und Haptoglobin während der Leberregeneration vermindert war. Müller et al. konnten 2002 zeigen, dass die Restleber nach partieller Hepatektomie eine vermehrte Expression von immediate-early-Genen wie z.B. Egr-1 (early growth response gene-1), PAI-1 (type-1 plasminogen activator inhibitor) und PRL-1 (phosphatase of regenerating liver-1) aufweist. Zusammengenommen unterstützen die genannten Arbeiten das Konzept, dass es durch die Induktion von Leberregeneration zu histologischen Veränderungen der Restleber nach Hepatektomie kommt und darüber hinaus zu einer verminderten Produktion von Leberfunktionsproteinen, wodurch der Gesamtorganismus potentiell geschädigt wird. In diesem Zusammenhang ist es als überaus fraglich anzusehen, ob die im hiesigen Modell beobachtete Verfettung nach Leberresektion bzw. Leberresektion + TIPS Ausdruck einer Schädigung der Leber oder aber Ausdruck einer veränderten Stoffwechselaktivität der Leberzellen ist, die einen Regenerationsstimulus erfahren haben.

Es ist bekannt, dass die Regeneration im nicht ligierten Lappen nach PBL im Kleintiermodell zunächst langsamer abläuft als nach Hepatektomie (Müller 2002). Letztlich erreicht die Regeneration jedoch das gleiche Endausmaß. Korrespondierend hierzu wurden in den vorliegenden Untersuchungen nach 72 Stunden deutlich weniger Mitosen nach PBL als nach partieller Hepatektomie bzw. nach Resektion + TIPS vorgefunden. Es ist daher denkbar, dass auch in diesem Modell nach PBL im Vergleich zu den Resektionsgruppen eine deutlich verminderte Regenerationsgeschwindigkeit vorliegt.

Ein wesentliches Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Frage zu klären, ob es nach einer kritischen Resektion im Großtiermodell zu einer durch hämodynamisch bedingten Schädigung der Restleber im Sinne eines so genannten portalen Hyperperfusionssyndroms kommt. Eine genaue pathophysiologische Definition dieses häufig postulierten Begriffes existiert derzeit nicht, es wird jedoch analog für den klinischen Begriff des *Small-for-size*-Syndroms aus der Lebertransplantationschirurgie angesehen und beinhaltet die Kombination von Cholestase, portaler Hyperperfusion und Aszites (Troisi 2003). *Small-for-size* bedeutet dabei die Transplantation einer relativ für den Gesamtorganismus zu

kleinen Lebermasse mit daraus resultierenden Problemen. Als Folgen des *Small-for-size*-Syndroms wurden hierbei eine verminderte Lebersynthese, eine Schwellung des Transplantates sowie ein protrahiertes Transplantatversagen beschrieben (Troisi 2003; Tucker 2005; Yanaga 1995). Ein ursächlicher Zusammenhang des *Small-for-size*-Syndroms mit der relativ zu starken portalen Perfusion wird dahingehend unterstützt, dass anhand von kleinen Patientenkollektiven, bei denen eine portale Dekompression durchgeführt wurde, eine verminderte Transplantatschädigung beobachtet wurde (Troisi 2003; Troisi 2003). Troisi und Mitarbeiter konnten 2003 zeigen, dass durch intraoperativen Verschluss der Milzarterie ein verminderter portaler Einstrom in das Transplantat erzielt werden konnte, welches die Ergebnisse der Operation verbesserte. Fukuchi et al konnten 2000 in einem letalen Hepatektomiemodell zeigen, dass eine portale Dekompression über einen portal systemischen Shunt ein verbessertes Überleben sowie eine verminderte sinusoidale Dilatation und eine verminderte Verfettung der Hepatozyten brachte. Im untersuchten Modell finden sich in den Restlebern nach Resektion die gleichen Veränderungen, die im Rahmen der oben genannten Arbeiten beschrieben worden sind. So zeigten sich drei Tage nach Resektion eine erhebliche Aufweitung der Sinusoide und ein Blutstau (Abb. 22). Darüber hinaus finden sich die schon erwähnten Verfettungen (Abb. 18). Der Vergleich von PBL und Resektion in Bezug auf die morphologischen Veränderungen, die laborchemischen Veränderungen und das Überleben der Tiere lässt darüber hinaus den Schluss zu, dass die Ausprägung der morphologischen und laborchemischen Veränderungen und der Schädigung des Organismus miteinander assoziiert sind. Nur drängt sich nun natürlich die Frage auf, welche Rolle die portale Hämodynamik alleine für die oben genannten Veränderungen spielt. Führt man nämlich eine Pfortaderligatur von 75 % der Leber durch, so muss zunächst davon ausgegangen werden, dass der portal hyperperfundierte Lappen nach Pfortaderligatur von der gleichen Menge portalen Blutes durchströmt wird wie die Restleber nach partieller Hepatektomie. Es ist allerdings denkbar, dass die Ausprägung von porto-portalen Kollateralen über die Leberlappenbrücken letztlich die portale Mehrbelastung im nicht ligierten Lappen nach PBL abmildert. Darüber hinaus ist es denkbar, dass es über eine arterielle Gegenregulation, der so genannten *hepatic-arteri-buffer-Response*, zu einem verminderten arteriellen Einstrom in den nicht ligierten Lappen kommt und hierüber zu einer Modulation des sinusoidalen Blutgemisches (Yokoyama 2001). Die

Möglichkeit einer arteriellen Gegenregulation über die ligierten Areale entfällt in den Resektionsgruppen, wodurch möglicherweise die arterielle Gegenregulation nicht möglich ist. Abgesehen von dieser gut charakterisierten, am verwendeten Modell jedoch nicht mit untersuchten hämodynamischen Parameter besteht potentiell auch die Möglichkeit, dass die Restlebern nach Resektion über systemische Faktoren einer größeren Beanspruchung ausgesetzt sind als der nicht ligierte Lappen nach Pfortaderligatur. Hierbei wäre potentiell die Clearance von hepatotoxisch wirkenden Mediatoren zu nennen, denen eine Restleber nach Resektion stärker ausgesetzt wäre oder eine vermehrte metabolische Beanspruchung. Auch könnte ein vermindertes Angebot wichtiger Metabolite, die in der Leber gebildet werden, letztlich auch die Leber selbst betreffen. Es kann aus den gewonnenen Daten daher nur indirekt ein linearer Zusammenhang zwischen der portalen Hämodynamik und dem Ausmaß der Leberschädigung hergestellt werden. Die beobachteten Veränderungen zwischen den Tieren, die in der Resektion + TIPS-Gruppe zur Auswertung kamen, im Vergleich zur alleinigen Resektions-Gruppe zeigten keinen hinreichend signifikanten Unterschied in Bezug auf Leberschädigung, Verfettung, Blutstau und Leberfunktion, so dass ein klares Herausarbeiten des Einflusses der portalen Hämodynamik wie oben erwähnt nicht gegeben war.

Die Verwendung des TIPS im Rahmen der Leberregeneration erbrachte in der vorliegenden Arbeit ein relativ inhomogenes Bild. So kam es nach TIPS-Anlage zu der höchsten AST, ALT sowie GLDH (Abb. 5,6 und 7), zur am stärksten ausgeprägten Erniedrigung des Quick-Wertes (Abb. 10) sowie Faktor V (Abb. 11), zur stärksten Verfettungsrate (Abb.15), zur stärksten Nekroserate (Abb. 19), aber gleichzeitig wurden auch die meisten Mitosen (Abb. 26) in der Restleber nach Resektion mit TIPS-Anlage gefunden. Würde man davon ausgehen, dass der TIPS eine portale Dekompression herbeiführt, so würde man allerdings eigentlich das Gegenteil erwarten. Ein möglicher Erklärungsansatz für das beobachtete verschlechterte Outcome in Bezug auf die Leberfunktion und die histologischen Schädigungsparameter könnte allerdings sein, dass es über die Manipulation im Rahmen der TIPS-Anlage, zum Beispiel wiederholte Punktionen durch das Leberparenchym sowie die Implantation des TIPS selbst, zu einer zusätzlichen Schädigung der kleinen Restleber gekommen ist. Letztlich bleibt dieser Zusammenhang allerdings ungewiss, weil wie schon erwähnt die Verwendung der unbeschichteten TIPS mit einer hohen technischen Versagerquote vergesellschaftet

war und weil letztlich nach 72 Stunden nur in zwei Tieren ein frei perfundierter TIPS vorlag. Aus der Literatur ist bekannt, dass die Anlage eines TIPS im Schweinmodell generell als schwierig anzusehen ist (Teng 1998; Hausegger 2003; Keussen 2002; Teng 2001; Otal 1999). So konnten Teng et al 2001 zeigen, dass in deren Studie 5 von 13 der gelegten Wallstents nach 14 Tagen verschlossen waren. Haskal et al konnten 1999 zeigen, dass nach Verwendung eines beschichteten TIPS 53% offener TIPS im Vergleich zu 45% nach Verwendung unbeschichteter TIPS erzielt werden konnten. Auf der anderen Seite konnten Hayashi et al 1998 von einem erfolgreichen Einsatz des TIPS zur Dekompression nach Lebertransplantation im Schwein berichten. Es ist denkbar, dass der geringe portosystemische Druckgradient im Schweinmodell sowie eine relative Hyperkoagulabilität die Ursache für die hohe Verschlussrate des TIPS darstellen. Die Verwendung des TIPS im Rahmen von Leberresektion zur portalen Dekompression, welche in der vorliegenden Arbeit als Machbarkeitsstudie ausgelegt war, stellt die Verfolgung dieser Strategie in der Klinik jedoch in Frage.

5.3 Ausblick / Rückschlüsse für die Klinik

Bei der 75%igen Leberteileresektion beim Minipig hat man es mit einem hohen Prozentsatz mit letalen Spontanverläufen zu tun, die sich klinisch, laborchemisch und histologisch ursächlich einem Posthepatektomie-Leberversagen zuordnen lassen. Im Vergleich zur 75%igen Pfortaderastligatur wird deutlich, dass der erhebliche Parenchymverlust in diesem Modell ursächlich für den schweren Verlauf anzusehen ist. Mit diesem Modell wird eine bestehende Lücke in Bezug auf die Forschungsmöglichkeiten der Leberregeneration an einem dem Menschen ähnlichen System geschlossen. Dieses Modell eignet sich somit bestens als Grundlage, um operationstechnische oder medikamentöse Maßnahmen zur Verbesserung des Outcome der erweiterten Leberresektionen zu evaluieren. Es wäre beispielsweise denkbar, eine andere technische Variante der portalen Dekompression am vorliegenden Großtiermodell zu untersuchen, beispielsweise die Anlage eines großvolumigen extrahepatischen portosystemischen Shunts analog zur Arbeit von Fukuchi, der dieses an Ratten durchführte (Fukuchi 2000). Auch könnte die von Troisi und Mitarbeitern beschriebene Methode der portalen Dekompression nach Reperfusion im vorliegenden Modell systematisch auf ihre Wirksamkeit untersucht

werden (Troisi 2005). Ebenso bietet das Modell die Möglichkeit, die an zahlreichen anderen Modellen durchgeführte ischämische Präkonditionierung, das heißt das zeitweise Abklemmen der arteriellen Perfusion der Leber, zu untersuchen (Eipel 2005). Besonders hervorzuheben ist die Möglichkeit, die bereits vorhandenen Medikamente auf mögliche Auswirkungen auf die Leberfunktion nach erweiterter Resektion zu untersuchen, da die Pharmakodynamik bei einem Großtier wie dem Minipig derjenigen des Menschen in vielen Fällen sehr ähnlich sein dürfte.

Für die Klinik ist ein weiterer bedeutsamer Aspekt zu beachten, der hierbei herausgearbeitet werden konnte. Offenbar findet eine Leberregeneration simultan auch in einer durch Parenchymverlust und hämodynamischen Stress massiv geschädigten Leber statt. Dieses ist durch das Vorhandensein von Mitosen in der gleichzeitig verfetteten, gestauten und entzündlich veränderten Leber belegt. Hieraus ließe sich schlussfolgern, dass eine massiv eingeschränkte Leberfunktion nach einer Leberteilektomie oder einer *Small-for-Size* Transplantation nicht gleichbedeutend mit einer schlechten oder nicht stattfindenden Regeneration ist, sondern lediglich eine durch den Parenchymverlust bedingte passagere Insuffizienz der Leber darstellt. Eine therapeutische Beeinflussung eines Posthepatektomie-Leberversagens wäre demnach hauptsächlich auf die Substitution der ausgefallenen Leberfunktion zu richten.

6. Zusammenfassung

Nach ausgedehnten Leberteilresektionen gefährdet die Kombination aus reduzierter Lebermasse und Änderung der Leberfunktionsleistung die Fähigkeit der Leber, ihre organspezifischen Funktionen zu erfüllen. Ziel der Arbeit war die Etablierung eines standardisierten Großtiermodells, um die pathophysiologischen Grundlagen des Leberversagens nach kritischen Leberteilresektionen und mögliche therapeutische Optionen erforschen zu können. Die Untersuchungen erfolgten an insgesamt 52 Minipigs. Bei 13 Tieren wurde eine 75 %ige Hepatektomie (PH) durchgeführt. Bei 19 Tieren wurde als Therapieversuch zur Verbesserung der Leberfunktion nach kritischer Resektion eine gleichzeitige portale Dekompression mittels transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS) vorgenommen. Bei 11 Tieren wurde eine 75 %ige Pfortaderastligatur (PBL) durchgeführt. Bei 9 Tieren erfolgte zu Kontrollzwecken eine Scheinoperation. Der Endpunkt des Versuches war nach 72 Stunden. Die Zielparameter waren Überleben zum Endpunkt des Versuches, die laborchemischen Leberzellschädigungs- und Funktionsparameter sowie die histologischen Veränderungen wie Inflammation, Proliferation und Verfettung der Hepatozyten. Nach Durchführung der erweiterten Leberresektion (Hepatektomie-Gruppe) lag die Letalität bei 33%. In der Gruppe der portal dekomprimierten resezierten Tiere (TIPS-Gruppe) lag die Letalität ebenfalls bei 33%. Nach Pfortaderastligatur und Scheinoperation überlebten alle Tiere. Nach Resektion kam es sowohl in der Resektions- als auch in der TIPS-Gruppe zu einer deutlichen Verminderung der laborchemischen Leberfunktionsparameter sowie einer Erhöhung der Schädigungsparameter im Vergleich zur Pfortaderastligatur und Scheinoperation. Die histologische Auswertung zeigte nach TIPS als Ausdruck der einsetzenden Regeneration bei portaler Druckentlastung eine höhere Mitoserate im Vergleich zur PH-Gruppe. Darüber hinaus kam es nach Resektion zu einem massiven venösen Blutstau mit Aufweitung der Sinusoide. Somit konnte gezeigt werden, dass das 75 %ige Hepatektomiemodell am Minipig sich als Großtierstandardmodell einer kritischen Hepatektomie eignet. Es konnte jedoch kein signifikanter Vorteil des TIPS in Bezug auf Überleben und Leberschädigung festgestellt werden. Somit empfiehlt sich das Modell zur weiteren systematischen Erforschung der pathophysiologischen Grundlagen der kritischen Leberteilresektion und der Optimierung der therapeutischen Optionen.

D Literaturverzeichnis

1. Bentrem DJ, Dematteo RP, Blumgart LH (2005): Surgical therapy for metastatic disease to the liver. *Annu Rev Med* 56, 139-156
2. Bocchetta M, Bruscalupi G, Castellano F, Trentalance A, Komaromy M, Fong LG, Cooper AD (1993): Early induction of LDL receptor gene during rat liver regeneration. *J Cell Physiol* 156, 601-609
3. Bogetti JD, Herts BR, Sands MJ, Carroll JF, Vogt DP, Henderson JM (2001): Accuracy and utility of 3-dimensional computed tomography in evaluating donors for adult living related liver transplants. *Liver Transpl* 7, 687-692
4. Broering DC, Hillert C, Krupski G, Fischer L, Mueller L, Achilles EG, Schulte am Esch J, Rogiers X (2002): Portal vein embolization vs. portal vein ligation for induction of hypertrophy of the future liver remnant. *J Gastrointest Surg*. 6, 905-13
5. Chijiwa K, Nakano K, Kameoka N, Nagai E, Tanaka M (1994): Proliferating cell nuclear antigen, plasma fibronectin, and liver regeneration rate after seventy percent hepatectomy in normal and cirrhotic rats. *Surgery* 116, 544-549
6. Court FG, Laws PE, Morrison CP, Teague BD, Metcalfe MS, Wemyss- Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ (2004): Subtotal hepatectomy: a porcine model for the study of liver regeneration. *J Surg Res* 116, 181-186
7. Craig CE, Quaglia A, Selden C, Lowdell M, Hodgson H, Dhillon AP (2004): The histopathology of regeneration in massive hepatic necrosis. *Semin Liver Dis* 24, 49-64
8. Duncan JR, Hicks ME, Cai SR, Brunt EM, Ponder KP (1999): Embolization of portal vein branches induces hepatocyte replication in swine: a potential step in hepatic gene therapy. *Radiology* 210, 467-477

9. Eguchi H, Umeshita K, Sakon M, Nagano H, Ito Y, Kishimoto SI, Dono K, Nakamori S, Takeda T, Gotoh M, Wakasa K, Matsuura N, Monden M (2000): Presence of active hepatitis associated with liver cirrhosis is a risk factor for mortality caused by posthepatectomy liver failure. *Dig Dis Sci* 45, 1383-1388
10. Eguchi S, Yanaga K, Sugiyama N, Okudaira S, Furui J, Kanematsu T (2003): Relationship between portal venous flow and liver regeneration in patients after living donor right-lobe liver transplantation. *Liver Transpl* 9, 547-551
11. Eipel C, Glanemann M, Nuessler AK, Menger MD, Neuhaus P, Vollmar B (2005): Ischemic preconditioning impairs liver regeneration in extended reduced-size livers. *Ann Surg* 241, 477-484
12. El-Serag HB, Mason AC (1999): Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. *N Engl J Med* 340, 745-750
13. El-Serag HB, Mason AC, Key C (2001): Trends in survival of patients with hepatocellular carcinoma between 1977 and 1996 in the United States. *Hepatology* 33, 62-65
14. Fausto N (2000): Liver regeneration. *J Hepatol* 32, 19-31
15. Fausto N, Laird AD, Webber EM (1995): Liver regeneration. 2. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration. *FASEB J* 9, 1527-1536
16. Frericks BB, Caldarone FC, Nashan B, Savellano DH, Stamm G, Kirchhoff TD, Shin HO, Schenk A, Selle D, Spindler W, Klempnauer J, Peitgen HO, Galanski M (2004): 3D CT modelling of hepatic vessel architecture and volume calculation in living donated liver transplantation. *Eur Radiol* 14, 326-333

17. Fujii Y, Shimada H, Endo I, Morioka D, Nagano Y, Miura Y, Tanaka K, Togo S (2003): Risk factors of posthepatectomy liver failure after portal vein embolization. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 10, 226-232
18. Fukuchi T, Hirose H, Onitsuka A, Hayashi M, Senga S, Imai N, Shibata M, Yamauchi K, Futamura N, Sumi Y (2000): Effects of portal-systemic shunt following 90% partial hepatectomy in rats. *J Surg Res* 89, 126-131
19. Fulop AK, Pocsik E, Brozik M, Karabelyos C, Kiss A, Novak I, Szalai C, Dobozy O, Falus A (2001): Hepatic regeneration induces transient acute phase reaction: systemic elevation of acute phase reactants and soluble cytokine receptors. *Cell Biol Int* 25, 585-592
20. Gertsch P, Stipa F, Ho J, Yuen ST, Luk I, Lauder IJ (1997): Changes in hepatic portal resistance and in liver morphology during regeneration: in vitro study in rats. *Eur J Surg* 163, 297-304
21. Gruttadauria S, Vasta F, Minervini MI, Piazza T, Arcadipane A, Marcos A, Gridelli B (2005): Significance of the effective remnant liver volume in major hepatectomies. *Am Surg* 71, 235-240
22. Gupta AK, Melton LJ 3rd, Petersen GM, Timmons LJ, Vege SS, Harmsen WS, Diehl NN, Zinsmeister AR, Ahlquist DA (2005): Changing trends in the incidence, stage, survival, and screen-detection of colorectal cancer: a population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 3, 150-158
23. Hanazaki K, Kajikawa S, Shimosawa N, Shimada K, Hiraguri M, Koide N, Adachi W, Amano J (2002): Prognostic factors of intrahepatic cholangiocarcinoma after hepatic resection: univariate and multivariate analysis. *Hepatogastroenterology* 49, 311-316
24. Harada N, Shimada M, Yoshizumi T, Suehiro T, Soejima Y, Maehara Y (2004): A simple and accurate formula to estimate left hepatic graft volume in living-donor adult liver transplantation. *Transplantation* 77, 1571-1575

25. Hasegawa K, Kokudo N, Imamura H, Matsuyama Y, Aoki T, Minagawa M, Sano K, Sugawara Y, Takayama T, Makuuchi M (2005): Prognostic impact of anatomic resection for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 242, 252-259
26. Haskal ZJ, Brennecke LH (1999): Transjugular intrahepatic portosystemic shunts formed with Polyethylene Terephthalate-covered stents: experimental evaluation in pigs. *Radiology* 213, 853-859
27. Hausegger KA, Portugaller H, Macri NP, Tauss J, Schedlbauer P, Deutschmann J, Stucklschweiger G, Stranzl H (2003): Covered stents in transjugular portosystemic shunt: healing response to non-porous ePTFE covered stent grafts with and without intraluminal irradiation. *Eur Radiol* 13, 1549-1558
28. Hayashi S, Namii Y, Nagasaka T, Kozima T, Katayama A, Negita M, Kobayashi T, Yokoyama I, Takagi H (1998): Application of intraoperative intrahepatic portosystemic shunt in split-liver transplantation of the pig. *Transpl Proceedings* 30, 3225-3228
29. Hickman R, Stapleton GN, Mets B, Hlatshwayo S, Janicki P (1995): Hepatic blood flow during reduced liver grafting in pigs. A comparison of controls and recipients of intact allografts. *Dig Diseases and Sciences* 40, 1246-1251
30. Hiroshige S, Shimada M, Harada N, Shiotani S, Ninomiya M, Minagawa R, Soejima Y, Suehiro T, Honda H, Hashizume M, Sugimachi K (2003): Accurate preoperative estimation of liver-graft volumetry using three-dimensional computed tomography. *Transplantation* 75, 1561-1564
31. Ito S, Winchester RJ (1963): The fine structure of gastric mucosa in the bat. *J Cell Biol* 16, 541-577

32. Jarnagin WR, Fong Y, DeMatteo RP, Gonen M, Burke EC, Bodniewicz BS J, Youssef BA M, Klimstra D, Blumgart LH (2001): Staging, respectability, and outcome in 225 patients with hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 234, 507-517
33. Ji ZL, Peng SY, Yuan AJ, Li PJ, Zhang W, Yu Y (2004): Hepatic resection for metastasis from colorectal cancer. *Tech Coloproctol* 8, 47-49
34. Kahn D, van Hoorn-Hickmann R, Terblanche J (1984): Liver blood flow after partial hepatectomy in the pig. *J Surg Res* 37, 290-294
35. Kahn D, Hickmann R, Terblanche J, von Sömmogy S (1988): Partial hepatectomy and liver regeneration in pigs—the response to different resection sizes. *J Surg Res* 45, 176-180
36. Kato T, Yasui K, Hirai T, Kanemitsu Y, Mori T, Sugihara K, Mochizuki H, Yamamoto J (2003): Therapeutic results for hepatic metastasis of colorectal cancer with special reference to effectiveness of hepatectomy: analysis of prognostic factors for 763 cases recorded at 18 institutions. *Dis Colon Rectum* 46, 22-31
37. Kawai M, Naruse K, Komatsu S, Kobayashi S, Nagino M, Nimura Y, Sokabe M (2002): Mechanical stress-dependent secretion of interleukin 6 by endothelial cells after portal vein embolization: clinical and experimental studies. *J Hepatol* 37, 240-246
38. Keussen I, Song HY, Bajc M, Cwikiel W (2002): Changes in the distribution of hepatic arterial blood flow following TIPS with uncovered stent and stent-graft: an experimental study. *Cardiovasc Intervent Radiol* 25, 314-317
39. Kim WR, Gores GJ, Benson JT, Therneau TM, Melton LJ (2005): Mortality and hospital utilization for hepatocellular carcinoma in the United States. *Gastroenterology* 129, 486-493

40. Koyama S, Sato Y, Hatakeyama K (2003): The subcutaneous splenic transposition prevents liver injury induced by excessive portal pressure after massive hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 50, 37-42
41. Lai EC, Lau WY (2005): The continuing challenge of hepatic cancer in Asia. *Surgeon* 3, 210-215
42. Lemke AJ, Brinkmann MJ, Pascher A, Steinmuller T, Settmacher U, Neuhaus P, Felix R (2003): Accuracy of the CT-estimated weight of the right hepatic lobe prior to living related liver donation (LRLD) for predicting the intraoperatively measured weight of the graft. *Rofo* 175, 1232-1238
43. Makisalo H, Salmela K, Isoniemi H, Tierala E, Hockerstedt K (1996): How to estimate the size of the donor liver. *Transpl Int* 9, 191-194
44. Mann DV, Lam WW, Hjelm NM, So NM, Yeung DK, Metreweli C, Lau WY (2001): Human liver regeneration: hepatic energy economy is less efficient when the organ is diseased. *Hepatology* 34, 557-565
45. Mueller L, Broering DC, Meyer J, Vashist Y, Goettsche J, Wilms C, Rogiers X (2002): The induction of the immediate-early-genes EGR-1, PAI-1 and PRL-1 during liver regeneration in surgical models is related to increased portal flow. *J Hepatol* 37, 606-612
46. Mueller L, Grotelueschen R, Meyer J, Vashist YK, Abdulgawad A, Wilms C, Hillert C, Rogiers X, Broering DC (2003): Sustained function in atrophying liver tissue after portal branch ligation in the rat. *J Surg Res* 114,146-55
47. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y, Kohno H, Nakamura T (1987): Human liver regeneration after major hepatic resection. A study of normal liver and liver with chronic hepatitis and cirrhosis. *Ann Surg* 206, 30-39

48. Nagino M, Nimura Y, Hayakawa N, Kamiya J, Kondo S, Sasaki R, Hamajima N (1993): Logistic regression and discriminant analyses of hepatic failure after liver resection for carcinoma of the biliary tract. *World J Surg* 17, 250-255
49. Nagino M, Nimura Y, Hayakawa N, Kamiya J, Kondo S, Miyachi M, Kanai M (1995): Disseminated intravascular coagulation after liver resection: retrospective study in patients with biliary tract carcinoma. *Surgery* 117, 581-585
50. Nair S, Shiv Kumar K, Thuluvath PJ (2002): Mortality from hepatocellular and biliary cancers: changing epidemiological trends. *Am J Gastroenterol* 97, 167-171
51. Niiya T, Murakami M, Aoki T, Murai N, Shimizu Y, Kusano M (1999): Immediate increase of portal pressure, reflecting sinusoidal shear stress, induced liver regeneration after partial hepatectomy. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 6, 275-80
52. Ohtsuka M, Ito H, Kimura F, Shimizu H, Togawa A, Yoshidome H, Shimamura F, Shimizu Y, Miyazaki M (2003): Extended hepatic resection and outcomes in intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 10, 259-264
53. Okamoto E, Kyo A, Yamanaka N, Tanaka N, Kuwata K (1984): Prediction of the safe limits of hepatectomy by combined volumetric and functional measurements in patients with impaired hepatic function. *Surgery* 95, 586-592
54. Otal P, Rousseau H, Vinel JP, Ducoin H, Hassissene S, Joffre F (1999): High occlusion rate in experimental transjugular intrahepatic portosystemic shunt created with a Dacron-covered nitinol stent. *J Vasc Interv Radiol* 10, 183-188

55. Panis Y, Lomri N, Emond JC (1998): Early gene expression associated with regeneration is intact after massive hepatectomy in rats. *J Surg Res* 79, 103-108
56. Panis Y, McMullan DM, Emond JC (1997): Progressive necrosis after hepatectomy and the pathophysiology of liver failure after massive resection. *Surgery* 121, 142-149
57. Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Wong J (2002): Long-term survival and pattern of recurrence after resection of small hepatocellular carcinoma in patients with preserved liver function: implications for a strategy of salvage transplantation. *Ann Surg* 235, 373-382
58. Sabugal R, Robert MQ, Julve J, Auwerx J, Llobera M, Peinado-Onsurbe J (1996): Hepatic regeneration induces changes in lipoprotein lipase activity in several tissues and its re-expression in the liver. *Biochem J* 318, 597-602
59. Sakaguchi K, Takeuchi E, Suzuki M, Oda K, Nagino M, Nimura Y, Yoshida S (2000): DNA polymerases and Ki-67 nuclear antigen are induced in correlation with the resected mass of rat liver up to 90%. *Langenbecks Arch Surg* 385, 135-142
60. Schmitz-Moormann P, Thomas C, Gebert G (1996): Verfettung und Fettleber. In: Thomas C (Hrsg) *Verdauungsorgane*. Schattauer, Stuttgart New York (Spezielle Pathologie, S 256-257)
61. Schoen JM, Wang HH, Minuk GY, Lautt WW (2001): Shear stress-induced nitric oxide release triggers the liver regeneration cascade. *Nitric Oxide* 5, 453-464
62. Shteyer E, Liao Y, Muglia LJ, Hruz PW, Rudnick DA (2004): Disruption of hepatic adipogenesis is associated with impaired liver regeneration in mice. *Hepatology* 40, 1322-1332

63. Sugimoto H, Kaneko T, Hirota M, Nagasaka T, Kobayashi T, Inoue S, Takeda S, Kiuchi T, Nakao A (2004): Critical progressive small-graft injury caused by intrasinusoidal pressure elevation following living donor liver transplantation. *Transplant Proc* 36, 2750-2756
64. Teng GJ, Bettmann MA, Hoopes PJ, Ermeling BL, Yang L, Wagner RJ (1998): Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in a porcine model: histologic characteristics at the early stage. *Acad Radiol* 5, 547-555
65. Teng GJ, Bettmann MA, Hoopes PJ, Yang L (2001): Comparison of a new stent and Wallstent for transjugular intrahepatic portosystemic shunt in a porcine model. *World J Gastroenterol* 7, 74-79
66. Tijburg LB, Nyathi CB, Meijer GW, Geelen MJ (1991): Biosynthesis and secretion of triacylglycerol in rat liver after partial hepatectomy. *Biochem J* 277, 723-728
67. Topaloglu S, Izci E, Ozel H, Topaloglu E, Avsar FM, Saygun O, Ucar G, Sokmensuer C, Hengirmen S (2005): Effects of TVE application during 70% hepatectomy on regeneration capacity of rats. *J Surg Res* 124, 139-145
68. Troisi R, Cammu G, Militerno G, De Baerdemaeker L, Decruyenaere J, Hoste E, Smeets P, Colle I, Van Vlierberghe H, Petrovic M, Voet D, Mortier E, Hesse UJ, de Hemptinne B (2003): Modulation of portal graft inflow: a necessity in adult living-donor liver transplantation? *Ann Surg* 237, 429-436
69. Troisi R, de Hemptinne B (2003): Clinical relevance of adapting portal vein flow in living donor liver transplantation in adult patients. *Liver Transpl* 9, S36-41
70. Troisi R, Praet M, de Hemptinne B (2003): Small-for-Size Syndrome: What is the problem? *Liver Transpl* 9, Suppl 1, pS1

71. Troisi R, Ricciardi S, Smeets P, Petrovic M, Van Maele G, Colle I, Van Vlierberghe H, de Hemptinne B (2005): Effects of hemi-portocaval shunts for inflow modulation on the outcome of small-for-size grafts in living donor liver transplantation. *Am J Transplant* 5, 1397-1404
72. Tucker ON, Heaton N (2005): The “small for size” liver syndrome. *Curr Opin Crit Care* 11, 150-155
73. Tygstrup N, Bangert K, Ott P, Bisgaard HC (2002): Messenger RNA profiles in liver injury and stress: a comparison of lethal and nonlethal rat models. *Biochem Biophys Res Commun* 290, 518-525
74. Urata K, Kawasaki S, Matsunami H, Hashikura Y, Ikegami T, Ishizone S, Momose Y, Komiyama A, Makuuchi M (1995): Calculation of child and adult standard liver volume for liver transplantation. *Hepatology* 21, 1317-1321
75. Vauthey JN, Abdalla EK, Doherty DA, Gertsch P, Fenstermacher MJ, Loyer EM, Lerut J, Materne R, Wang X, Encarnacion A, Herron D, Mathey C, Ferrari G, Charnsangavej C, Do KA, Denys A (2002): Body surface area and body weight predict total liver volume in Western adults. *Liver Transpl* 8, 233-240
76. Wack KE, Ross MA, Zegarra V, Sysko LR, Watkins SC, Stolz DB (2001): Sinusoidal ultrastructure evaluated during the revascularization of regenerating rat liver. *Hepatology* 33, 363-378
77. Yamanaka N, Okamoto E, Kuwata K, Tanaka N (1984): A multiple regression equation for prediction of posthepatectomy liver failure. *Ann Surg* 200, 658-663
78. Yanaga K, Kishikawa K, Suehiro T, Nishizaki T, Shimada M, Itasaka H, Nomoto K, Kakizoe S, Sugimachi K (1995): Partial hepatic grafting: porcine study on critical volume reduction. *Surg* 118, 486-492

79. Yasui K, Shimizu Y (2005): Surgical treatment for metastatic malignancies. Anatomical resection of liver metastasis: indications and outcomes. *Int J Clin Oncol* 10, 86-96
80. Yokoi H, Isaji S, Yamagiwa K, Tabata M, Sakurai H, Usui M, Mizuno S, Uemoto S (2005): Donor outcome and liver regeneration after right-lobe graft donation. *Transpl Int* 18, 915-922
81. Yokoyama Y, Baveja R, Sonin N, Clemens MG, Zhang JX (2001): Hepatic neovascularization after partial portal vein ligation: novel mechanism of chronic regulation of blood flow. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280, G21-G31
82. Yoshizumi T, Gondolesi GE, Bodian CA, Jeon H, Schwartz ME, Fishbein TM, Miller CM, Emre S (2003): A simple new formula to assess liver weight. *Transplant Proc* 35, 1415-1420
83. Zieve L, Anderson WR, Lindblad S (1985): Course of hepatic regeneration after 80% to 90% resection of normal rat liver. Comparison with two-lobe and one-lobe hepatectomy. *J Lab Clin Med* 105, 331-336
84. Zimmermann A (2004): Regulation of liver regeneration. *Nephrol Dial Transplant* 19, 6-10

E Danksagung

Herrn *Prof. Dr. med. Dr. h.c. X. Rogiers* möchte ich für die Ermöglichung und Unterstützung der Promotion in seiner Klinik danken.

Besonderer Dank gilt Herrn *Dr. med. Christian Hillert* für die unermüdliche und exzellente Betreuung meiner Arbeit und die jederzeit gewährte freundliche und tatkräftige Unterstützung.

Herrn *Prof. Dr. med. G. Krupski* und Herrn *Dr. med. A. Koops* danke ich für die Unterstützung bei der Implantation der TIPS.

Herrn *Prof. Dr. med. K. Helmke* danke ich für seinen Einsatz bei der Durchführung der duplexsonographischen Untersuchungen.

Herrn *Prof. Dr. med. Davidoff* möchte ich für die Hilfe bei der Erstellung der Semidünnschnitte danken.

Frau *Dr. med. S. Petri* danke ich für die außerordentlich engagierte Unterstützung bei der Auswertung der Histologien.

Herrn *Priv.-Doz. Dr. med. D. C. Bröring* möchte ich für die Hilfe bei den Operationen danken.

Herrn *Dr. med. vet. J. Dimigen* und seinen Mitarbeitern der Tierhaltung danke ich für die gute Zusammenarbeit während der tierexperimentellen Arbeit.

Danken möchte ich außerdem allen Mitarbeitern des Chirurgischen Forschungslabors, insbesondere Frau *S. Himpel* und Frau *S. Brillof*, für ihre Anleitung und Hilfestellungen im medizinisch-technischen Bereich.

Besonders möchte ich auch meinen Mitdoktoranden Herrn *Kai Hammerich* und Herrn *Dr. med. Willem Evermann*, sowie Herrn *Dr. med. Christian Wilms* und Herrn *Dr. med. Christian Lenk* für die gegenseitige Unterstützung danken.

Vor allem danke ich jedoch meinem Ehemann *Dr. med. Lars Müller*, meinen Eltern, Schwiegereltern und Bruder für die tatkräftige und motivierende Unterstützung, ohne die die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Schließlich gilt mein Dank der Werner-Otto-Stiftung für die Förderung meiner Dissertation.

F Lebenslauf

Name: Anett Müller, geb. Paetz

Geburtsdatum/-ort: 19.04.1979 in Hamburg

Familienstand: verheiratet

Ehemann: Dr. med Lars Müller, *02.03.1972, Facharzt für Chirurgie

Eltern: Heinz H. Paetz, *04.10.1943, Steuerberater / Rechtsbeistand
Hella Paetz, *04.10.1946, Hausfrau

Geschwister: Marc Paetz, *16.04.1977, Dipl. Kaufmann

Schulbildung: 1985-1989 Grundschule Ratsmühlendamm, Hamburg
1989-1998 Gymnasium Alstertal, Hamburg
1998 Abitur

Studium: Seit 10/1998 Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg
03/2001 Ärztliche Vorprüfung
09/2002 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
09/2004 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Seit 04/2005 im Praktischen Jahr

Dissertation: 04/2001 Beginn der Doktorarbeit in der Klinik für Hepatobiliäre Chirurgie und Viszerale Transplantation, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

10/2001 bis 10/2003 Stipendium der Werner-Otto-Stiftung zur Förderung der Dissertation.

Eidesstattliche Versicherung:

„Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.“

(Anett Müller)