

Editor-in-Chief:

Prof. Dr. med. Arno-E. Lison

Direktor der Med. Klinik III

Klinikum Bremen-Mitte gGmbH

St.-Jürgen-Straße

D-28205 Bremen

Tel. ++ 49 (0) 4 21/49 73 647

Fax ++ 49 (0) 4 21/49 73 310

E-mail:

arno.lison@klinikum-bremen-mitte.de

Advisory-Board:

"Wissenschaftlicher Beirat der DTG"

sowie

R. G. Bretzel, Gießen

Ch. Broelsch, Essen

Sir R. Calne, Cambridge

J. M. Campistol, Barcelona

M. C. Deng, New York

K. Dreikorn, Bremen

H. Grosse-Wilde, Essen

H. Haller, Hannover

J. Hauss, Leipzig

U. Heemann, München

U. Hopt, Freiburg

S. A. Hunt, Stanford

J. Klempnauer, Hannover

W. Land, München

H. Lange, Marburg

J. Lerut, Brüssel

A. S. MacDonald, Halifax

F. Mühlbacher, Wien

P. Neuhaus, Berlin

G. Offermann, Berlin

G. Persijn, Leiden

N. Senninger, Münster

Y. Vanrenterghem, Leuven

F. A. Zantvoort, Bremen

PABST PUBLISHERS

Eichengrund 28, D-49525 Lengerich

Tel. ++ 49 (0) 54 84-97234

Fax ++ 49 (0) 54 84-550

E-mail: pabst.publishers@t-online.de

Internet: www.pabst-publishers.com

Konto-Nr. 709772411

BLZ 26580070

Erscheinungsweise: 4x jährlich

Einzelheft: 10,- € Inland, 12,- € Ausland, inkl. Versand und MwSt.

Jahresabonnement: 32,- € Inland, 35,- € Ausland, inkl. Versand und MwSt.

18. Workshop für experimentelle und klinische Lebertransplantation und Hepatologie

Wilsede, 14. bis 16. Juni 2007

Abstracts

Inhaltsverzeichnis

Poster	3
3-D-Visualisierung der Leber	22
Immunsuppression	25
Maligne Tumoren der Leber	29
Zelltransplantation	35
Ischämie/Reperfusion	40
Hepatitis	46
Verzeichnis der Vorsitzenden und Referenten	48

Vorwort

Es ist uns eine große Freude, mit Ihnen zusammen den Workshop für experimentelle und klinische Lebertransplantation und Hepatologie, der vom 14.-16.06.2007 stattfinden wird, gestalten zu dürfen.

Diese in seiner einzigartigen Form bereits zum 18. Mal stattfindende Veranstaltung ist für viele von uns zur Institution mit individuellem Charakter geworden und hebt sich deutlich aus der allgemeinen anonym gehaltenen Kongresslandschaft hervor. Der romantische Veranstaltungsort Wilsede, der nur zu Fuß, per Rad oder per Kutsche erreicht werden kann, rustikale Verpflegung, gemütliche Unterkünfte, traditioneller Grillabend, Heidewanderung und vieles mehr tragen hierzu bei. Obwohl der Veranstaltungsort im positiven Sinne Museumscharakter hat und eher konservativ erscheint, lässt der Wilseder Berg mit 169 m über NN, die höchste Erhebung in Norddeutschland westlich der Elbe und nördlich des Harzes, bereits den inhaltlichen Weitblick des Workshops erahnen.

Abgesehen von den äußerst angenehmen sozialen Aspekten, die insbesondere durch das unermüdliche Engagement von Herrn Mario Medri sowie dem gesamten Team von Biotest geprägt sind, hat sich dieser in Deutschland einzigartige Workshop zu einer unverwechselbaren Veranstaltung entwickelt, von der gleichwohl junge und erfahrene Kollegen in verschiedenster Hinsicht profitieren.

Inhaltlich werden schwerpunktmäßig die Themen **Spenderkonditionierung/Organkonservierung, Ischämie-/Reperfusionsschaden, Hepatitis B/C, Immunsuppression, Hepatozytentransplantation, Leberlebendspende / Operationsplanung mittels 3D-CT und Transplantation bei malignen Tumoren** berücksichtigt. Zur besonderen Würdigung von wissenschaftlichen Spitzenleistungen sollen in bewährter Art Preise vergeben werden. Neben dem **Posterpreis** soll eine **Dissertation** ausgezeichnet werden. Hierzu bitten wir **ab 2005** eingereichte Doktorarbeiten zur Begutachtung an die Organisatoren einzusenden.

Die Tagung steht dieses Mal unter der Schirmherrschaft der Deutschen Transplantationsgesellschaft (DTG).

PROF. DR. MARKUS W. BÜCHLER

PROF. DR. JAN SCHMIDT

PROF. DR. PETER SCHEMMER

Poster

Successful liver transplantation in a kidney and pancreas allograft recipient with fulminant hepatic failure due to HSV2 hepatitis

*Y.-M.A. Lee, J. Encke, P. Gerke, A. Ganner, C. Busche, A. Schmitt-Gräff
Heidelberg, Freiburg*

Introduction: Herpes simplex virus (HSV) is an infrequent cause of viral hepatitis accounting for 1.4% of all cases with acute liver failure and is associated with a high mortality in adults. HSV 1 and 2 can both cause fulminant acute hepatitis that occurs mainly in immunosuppressed patients. Therapeutic options include intravenous acyclovir therapy and liver transplantation. Nevertheless, in a recent French report all 5 patients with fulminant hepatic failure due to HSV died, two of them prior to transplantation, two up to one month after transplantation and one patient survived for one year. The following report describes a 33-year-old simultaneous kidney and pancreas graft recipient. Ten months after transplantation she presented with high fever and renal and hepatic failure without obvious cutaneous lesions. Gynaecological examination, serological tests and an early liver biopsy led to the diagnosis of fulminant HSV2 hepatitis. The immediate start of intravenous acyclovir and foscarnet could not influence her rapid deterioration. On day nine after admission she successfully underwent an orthotopic liver transplantation.

Results: A 33-year-old caucasian female with end-stage renal disease secondary to juvenile diabetes mellitus underwent simultaneous kidney and pancreas transplantation in February 2006. Her medication included tacrolimus, mycophenolic acid and prednisone. After an aggressive interstitial cellular kidney rejection in July 2006 tacrolimus trough levels were kept between 10 and 15 ng/ml, and serum creatinine was 1.1 mg/dl. During a stay in Egypt in November 2006, she developed fever and went to a local hospital for evaluation. Two days later she complained abdominal pain and persistent fever despite empiric antibiotic therapy. On day four after admission, she was transferred to Frei-

burg University Hospital. She presented with a body temperature of 38.2°C and right upper quadrant tenderness. Initial investigations revealed a C-reactive protein of 265 mg/l, haemoglobin 8.1 mg/dl, leukocyte count 11.6x10⁹/L, platelet count 183x10⁹/L, international normalized ratio (INR) 0.94, creatinine 1.8 mg/dl, aspartate aminotransferase 259 U/L, alkaline phosphatase 121 U/L, tacrolimus 29.1 ng/ml. Blood cultures, chest radiograph and abdominal MRI did not reveal a clear hint at the cause of her symptoms or the origin of the infection. Serological tests for hepatitis A, B and C as well as CMV were negative. Piperacillin/tazobactam and trimethoprim/sulfamethoxazol were started as well as fluconazole because of a suspected vaginal candida infection. Blood and urine cultures remained negative and serum creatinine and transaminases continued to increase. After four days the patient was still alert and oriented and vital signs were inconspicuous. We observed a decline in C-reactive protein levels, continuously increasing liver enzymes, a slightly elevated alkaline phosphatase and normal serum bilirubin. A chest radiograph showed a retrocardial opacity, and bronchioalveolar lavage was positive for *E. coli*. At that time, fluconazole was stopped for presumed drug toxicity. A liver biopsy performed on the following day revealed several necrotic foci, and more than 60% of the remaining hepatocytes contained intranuclear inclusions characteristic of HSV. At that time, we observed vaginal vesicle lesions suggestive of local herpes simplex infection. Serum PCR revealed massive amounts of HSV2 DNA and were negative for HSV1. She had no antibodies to HSV before transplantation confirming the diagnosis of a disseminated primary HSV2 infection. On further inquiry she said she had sexual contact in Egypt 4 weeks before showing the first symptoms. She denied having typical symptoms such as dysuria, myalgia, pain, itching, vaginal and urethral discharge. Intravenous acyclovir therapy (6,6 mg/kg every 24 h) was started immediately but could not prevent progressive hepatic failure. As her clinical condition continued to deteriorate rapidly, she was transferred to Heidelberg University Hospital on day 6 after admission to Freiburg for further treatment. She presented with se-

vere hepatic encephalopathy, sepsis, as well as liver and kidney failure. Laboratory investigation and arterial blood gas determination revealed a metabolic acidosis of pH 7,16, a negative base excess of 13.6, ammonia 122 mM, AST 7620 U/l, ALT 3170 U/l, INR 2,1. Ventilation therapy and hemodialysis was performed. The intravenous acyclovir therapy was intensified (10 mg/kg every 12 h) and foscarnet (15 mg/kg every 12 h) adapted to renal insufficiency as well as broad spectrum antibiotics and antimycotics. Serum HSV2 viral load was 2.4×10^8 copies/ml. Immunosuppression was reduced to hydrocortisone 240 mg/24h. Because of rapid progressing liver failure and rising HSV2 serum titer, she was listed for high urgency orthotopic liver transplantation. At that time the patient was in hepatic coma. Two days later, orthotopic liver transplantation was performed. Early allograft function was excellent and her encephalopathy improved. High dose acyclovir and foscarnet therapy was continued. The postoperative course was complicated by acute renal failure with anuria requiring hemodialysis for 4 weeks, an acute respiratory distress syndrome due to the E. coli pneumonia and an acute liver rejection (BANFF score 8) thirtyseven days after transplantation. The rejection responded well to intravenous steroids and there was no immunehistological evidence of herpes simplex infection of the graft. She was eventually weaned from mechanical ventilation and gradually the renal function improved. It took 65 weeks of antiviral therapy until viral DNA was undetectable. Therefore and because of renal toxicity Foscarnet was stopped and acyclovir continued. Immunosuppression was tacrolimus and prednisone, and 4 weeks after liver transplantation mycophenolic acid was added. In January 2007, the patient shows a fast recovery and all three transplants have completely normal functions.

Living donor liver resection: An old-fashioned but highly efficient technique

*A. Schnitzbauer, T.-Y. Tsui, M. N. Scherer,
H. J. Schlitt, A. Obed
Regensburg*

Introduction: To evaluate an old fashioned low-tech blunt liver dissecting technique using dissecting scissors and to evaluate

its safety and results for living liver donor procedures.

Methods: Between 2003 and September 2006 a total of 33 adult-to-adult living related donor operations were performed by our team either at the University of Regensburg Medical Center (UoR) and at the Jordan Hospital (JH), Amman, Jordan. For the technique of parenchymal dissection only dissecting scissors, metal clips and bipolar forceps were utilized. The scissors were used for blunt preparation, both branches closed and carefully pressing into the hepatic parenchyma. Donor data, data of the surgical procedure, as well as data on remaining donor liver function, recovery and length of the hospital stay were analyzed and compared to data on living donor hepatectomy from the literature.

Results: Median time of the donor liver resection was 285 minutes (range 210 to 420 minutes). Median intra-operative blood loss was 600 ml (range 400 to 950 ml). GOT/ASAT levels decreased from a median of 240 U/l (range 22 to 510 U/l) on day 1 to a median of 56 U/l (range 24 to 136 U/l) on day 7. Bilirubin levels were at a median of 1.94 mmol/l (1.29 to 4.73 mmol/l) on day 1 and 1.17 mmol/l (range 0.56 to 2.47 mmol/l) on day 7. After a median of 12 days (range 6 to 20), all donors could be discharged. There was no donor mortality. One major complication (biliary leakage) and 7 minor complications (pleural effusion (2), abdominal wall hematoma, subileus, a seroma, prolonged decrease of transaminases and a scar revision due to celoid occurred).

Conclusion: In conclusion the technique that we present is an old fashioned but efficient donor dissection technique in living liver transplantation, which is comparable to other well established dissection techniques utilizing technical devices, in regards to risk for the donor, performance and recovery.

Adult living donor liver transplantation: analysis of initial 32 cases with a “simple” donor right lobe hepatectomy

*T. Y. Tsui, A. Schnitzbauer, M. N. Scherer,
H. J. Schlitt, A. Obed
Regensburg*

Introduction: Living donor liver transplantation (LDLT) is performed for adults

with end-stage liver disease to compensate the critical shortage of diseased donation.

Methods: In the present study, we postulated that LDLT program could be established with a simple donor right lobe hepatectomy that sophisticated instruments may not be required. A cohort study with 32 LDLTs was conducted between 2004 and 2006. The median follow-up was 17 months. Operative data, incidence of post-operative complications and hospital mortality of donor right lobe hepatectomy and liver transplantation were analysed.

Results: There was no homologous blood transfusion during the donor right lobe hepatectomy. No major surgical complications and no hospital mortality were observed in all 32 donors. All donors were discharged with normal liver function with median ICU stay of 1 day and median hospital stay of 10 days. All recipients had normal liver function at posttransplant day 7 to day 14. 81% of recipients survived with normal liver function for more than 90 days. The pretransplant ICU stay, renal failure, INR (>1.8) and MELD score (>20) were independent risk factors for hospital mortality.

Conclusion: In conclusion, a simple donor right lobe hepatectomy can be performed in all donors, with low donor-morbidity and zero donor-mortality. The survival characteristics of recipients were similar to those of previously reported series.

Gallengangskomplikationen nach Lebertransplantation: Eine retrospektive Analyse der Mainzer Endoskopiedaten

M. Sprinzl, Mainz

Einleitung: Die orthotope Lebertransplantation (OLT) zeigt gute Ergebnisse mit 5-Jahres-Überlebensraten nach OLT von gegenwärtig 70 bis 80 Prozent. Dennoch betreffen Komplikationen der Gallengänge (GG) nach allgemeinen Erfahrungen noch ca. 15 Prozent der OLT Patienten. Ziel der vorgestellten Untersuchung war die Prognoseeinschätzung bei GG-Komplikationen unter Berücksichtigung der durchgeführten Interventionen.

Methode: Retrospektiv wurden die Cholangiogramme aller OLT-Patienten (n = 268) der Universitätsklinik Mainz zwischen 1999 und 2004 ausgewertet. Die weitere Beobachtung über mindestens zwei Jahre nach OLT dauerte bis Ende

2006 und erfasste neben den durchgeführten Interventionen das Transplantat- und Patientenüberleben.

Ergebnis: Das GG-Screening aller OLT-Patienten erbrachte 106 GG-Komplikationen, welche 33% der OLT-Patienten (n=90) betrafen. Die GG-Komplikationen bestanden aus ischämischen GG-Läsionen (IBL, n=8), GG-Leckagen (n=18), isolierten GG-Stenosen (n=27) und Ischämie-artigen GG-Läsionen (ITBL, n=33). Seltene Komplikationen wurden gesondert zusammengefasst (n=20). GG-Leckagen und GG-Stenosen hatten keinen Einfluss auf das Transplantatüberleben. Durch die endoskopische Stentversorgung wurden alle GG-Leckagen bzw. 74% der GG-Stenosen dauerhaft saniert. Verglichen mit OLT-Patienten ohne GG-Komplikation war bei manifester IBL mit einem kürzeren Transplantatüberleben (p=0,001) zu rechnen. Für OLT-Patienten mit gesicherter ITBL konnte nur ein Negativtrend ausgemacht werden (p=0,295). Besonders IBL zeigten therapierefraktäre Verläufe, welche in 87% der Fälle zum Transplantatversagen führten. Die endoskopische Stentversorgung der ITBL musste in 62% der Fälle zugunsten von perkutanen Drainagen verlassen werden. Nach perkutaner Drainageanlage zeigten jedoch 50% (n=9/18) der Patienten eine stabile Transplantatfunktion.

Schlussfolgerung: Das routinemäßige GG-Screening aller OLT-Patienten identifizierte eine höhere GG-Komplikationsrate als bisher beschrieben. Wir konnten zeigen, dass die perkutane Drainageanlage eine mögliche Therapiealternative der prognostisch ungünstigen ITBL bietet. Das GG-Screening eröffnet außerdem Chancen auf eine frühe Behandlung der GG-Komplikationen und dient der Identifikation von OLT-Patienten mit erhöhtem Komplikationsrisiko.

Are lacerated livers transplantable?

A case report with review of the literature

*H. Fonouni, A. Mehrabi, B. Schmied, P. Kienle, J. Weitz, P. Schemmer, M. Büchler, J. Schmidt
Heidelberg*

Introduction: To reduce the gap between organ demand and supply transplant centers defined extended donor criteria to use more marginal donors. Using traumatized

livers for liver transplantation (LTx) can in part decrease this disparity. Our aim is to present a successful case of LTx using a high grade traumatized liver as well as a review of the literature for reported cases which have shown a promising outcome.

Methods: For LTx, we used a traumatized liver from a 19 years old brain dead patient suffering from a simultaneous liver and spleen injury. The liver had a grade IV laceration on the right lobe without vascular disruption and a grade II laceration on the left lobe, which were managed by digital compression, sealing of the lacerations by sealants with consecutive stitching and perihepatic packing following the splenectomy. The liver and kidneys were preserved using HTK. The liver was transplanted to a 49 years old male with a hepatitis C induced liver cirrhosis accompanying HCC (cold ischemia time: 4.5h). The 6-month follow up was uneventful with a normal liver function test.

Results: All published LTx cases using traumatized livers (n = 17) were analyzed emphasizing the graft and patient survival. The mean donors and recipients age were 24 and 57 years, respectively. The severity of liver injury varied from subcapsular hematoma to deep ruptures leading to liver resection in 4 cases. No hepatic vascular avulsion was reported. The intraoperative hemostatic managements were digital compression, electrocautery and perihepatic packing. Mean post-LTx follow-up period was 7.5 months (6-26). The reported complications were primary non-function (18%) or poor-function (one case), liver abscess (one case), and hematoma (one case). For all reported cases, the 6-month grafts and patients survival rates were 71% and 88%, respectively.

Conclusion: With meticulous managements and intact major hepatic vasculatures, traumatized livers of mostly young donors can be used for successful LTx. Using this option allows transplant surgeons to expand the donor pool. Due to the complexity of the management of the traumatized livers the harvesting should be done by experienced liver surgeons. Due to the vulnerability of these organs to develop primary non- or poor-function they should be classified as marginal organs and offered to HCC or other very urgent patients.

Postoperative gesundheitliche, soziale und psychische Belastungen von Familien mit einem lebertransplantierten Kind stehen in Zusammenhang mit der Körpergröße des Kindes bei Transplantation

*T. Kaller, S. Witzel, A. Richterich, M. Burdelski, L. Fischer, K.-H. Schulz
Hamburg*

Einleitung: Die lebenslange Einnahme von Immunsuppressiva, die latente Angst vor einem erneuten Organversagen und mögliche Entwicklungsverzögerungen lebertransplantierten Kinder stellen ein hohes Risiko für psychische, gesundheitliche und soziale Belastungen für die Familien dar (Schulz, 2001; 2001a). Gerade bei Kindern besteht die Gefahr von langfristigen Folgen für ihre weitere Entwicklung, wenn eventuelle Retardierungen in einem Entwicklungsbereich nicht frühzeitig erkannt und behandelt werden (Kaller, 2005; Stewart, 1994). Die vorliegende Studie ist Teil des interdisziplinär ausgerichteten Projektes Lebe® an der Universitätsklinik Eppendorf in Hamburg, das den Bedarf an psychologischer Betreuung prä- und postoperativ erhebt und deckt. Die Familien werden im Rahmen der Jahreskontrolluntersuchung mit einem umfassenden standardisierten Instrumentarium zu ihrer gesundheitlichen, sozialen und psychischen Situation untersucht, besonders berücksichtigt wird der kognitive Entwicklungsstand des Kindes. Die im Folgenden präsentierten Ergebnisse zeigen einen Ausschnitt aus der laufenden Datenerhebung.

Methode: Die bisher untersuchte Stichprobe umfasst 44 Kinder, bei denen eine Lebertransplantation (LTx) durchgeführt wurde. Zum Transplantationszeitpunkt waren die Kinder durchschnittlich 35 Monate alt (SD=37; Min=3 – Max=183). Die LTx lag zum Untersuchungszeitpunkt durchschnittlich 5;2 Jahre zurück (SD=3;7; Min=7 – Max=167 Monate), mithin waren die Kinder zum Testzeitpunkt im Durchschnitt 8;1 Jahre alt (SD=4;4 Jahre; Min: 21 Monate – Max: 17;5 Jahre). 14 Kinder hatten eine Lebendspende erhalten, 30 eine post mortem Spende, häufigste Diagnose war Biliäre Atresie (48%). Folgende Verfahren wurden bislang ausgewertet: Gießener Beschwerdebogen – Fremdeinschätzung der Eltern über ihre Kinder (GGB-KJ) (Brähler, 1992); Fragebogen zur familiären Belastung (FABEL) (Ravens-Sieberer, 2001); Symptomcheckliste 14 (SCL-

14) mit den Skalen Depressivität, Angst, Somatisierung (Brähler, 2001); die deutsche Fassung der Shortform 12 (SF-12) mit den Skalen Körperliches und Psychisches Wohlbefinden (Bullinger, 1999); sowie eine visuelle Analogskala (Wertbereich von 0 bis 100, beste bis schlechteste Gesundheit), auf der die Eltern den aktuellen Gesundheitszustand des transplantierten Kindes einschätzen.

Ergebnis: Im GBB geben die Eltern für ihre transplantierten Kinder wenig Beschwerden an: In allen Skalen des GBB ordnen die Befragten die Beschwerden ihres Kindes im untersten Bereich ein (auf einer 5-stufigen Skala von „0 = nie“ bis „4 = dauernd“ zwischen 0 und 1). Die zum Untersuchungszeitpunkt eingeschätzten Gesamtbeschwerden korrelieren jedoch signifikant mit der Körpergröße ($r = -.78$; $p < 0.01$) und dem Körpergewicht prä LTx ($r = -.72$; $p < 0.01$). Im FABEL berichten die Eltern unterschiedliche Belastungen in den verschiedenen Skalen: Auf einer vierstufigen Skala von „1 = trifft überhaupt nicht zu“ bis „4 = trifft ganz zu“ ordnen die Eltern die tägliche und soziale Belastung der Familie bei 1.8 ein, die Belastung der Geschwister bei 3, die finanzielle Belastung bei 2.7, die persönliche Belastung/Zukunftssorgen bei 2.2 und die Probleme bei der Bewältigung bei 1.6. Verglichen mit der deutschen Normstichprobe zeigen sich im t-Test signifikante Unterschiede in der Skala „Belastung der Geschwister“ ($t = 5.23$; $p < 0.001$) und der Skala „finanzielle Belastung“ ($t = 19.28$; $p < 0.001$). In der Skala „Probleme bei der Krankheitsbewältigung“ zeigt sich wiederum ein hoher Zusammenhang mit der Körpergröße ($r = .55$, $p = 0.012$) und dem Körpergewicht zum Zeitpunkt der LTx ($r = .53$, $p = 0.017$), je kleiner und leichter die Kinder bei LTx waren, desto größer sind die postoperativen Probleme bei der Krankheitsbewältigung. In der Analogskala geben die befragten Eltern den aktuellen Gesundheitsstatus ihres Kindes im Durchschnitt mit 85 an ($SD = 14$, $Min = 30$ – $Max = 100$). Sie korreliert mit allen Skalen des GBB signifikant („Erschöpfung“ $r = -.72$, $p < 0.001$; „gastrointestinale Beschwerden“ $r = -.56$, $p = 0.003$; „rheumatische Beschwerden“ $r = .46$, $p = 0.01$; „Herz/Kreislauf“ $r = -.51$, $p = 0.008$; „grippale Infekte“ $r = -.39$, $p = 0.036$; „gesamt Beschwerdedruck“ $r = .68$, $p < 0.001$). Außerdem zeigt sich ein Zusammenhang mit der Skala „Angst“ des SCL 14 ($r = -.57$, $p = 0.001$) und der Skala „Tägliche und soziale Belastung“ des FABEL ($r = -.57$, $p = 0.002$). In der SCL 14 äußern die Eltern kaum eigene Beschwerden:

Auf einer fünfstufigen Skala von „0 = überhaupt nicht bis „4 = sehr stark“ ordnen sie sich in allen Skalen im unteren Bereich zwischen 0 und 1 ein. Die Skala „Depressivität“ korreliert wiederum signifikant mit der Körpergröße der Kinder bei LTx ($r = -.45$; $p = 0.037$). In der SF 12 liegen die standardisierten Mittelwerte der untersuchten Stichprobe bei $M = 52.5$ ($SD = 6.3$) in der Skala „Körperliches Wohlbefinden“ und bei $M = 45.7$ in der Skala „Psychisches Wohlbefinden“ ($SD = 10$). Damit liegen die Ergebnisse in der Skala „Körperliches Wohlbefinden“ signifikant oberhalb einer Normstichprobe aus 667 Müttern ($M = 49.3$, $SD = 7.9$; $t = 2.78$, $p = 0.009$). Die Ergebnisse der Skala „Psychisches Wohlbefinden“ liegen dagegen signifikant unterhalb der Normstichprobe ($M = 50.77$, $SD = 8.5$; $t = -2.78$, $p = 0.009$). Die „Skala Psychisches Wohlbefinden“ korreliert ebenfalls signifikant mit der Körpergröße der Kinder bei LTx ($r = .47$, $p = 0.037$). In keinem Verfahren lassen sich Zusammenhänge zwischen dem Alter bei Transplantation, der Krankheitsdauer, der Art der Spende (Lebend- oder post mortem Spende), der Dauer des Krankenhausaufenthaltes oder des postoperativen Zeitraumes nachweisen.

Schlussfolgerung: Die hohe psychische und finanzielle Belastung der Eltern sowie die der Geschwister spricht für eine intensivierte Betreuung der Familien prä und post LTx. Der hohe Zusammenhang der Belastungen mit der präoperativen Körpergröße unterstreicht die Bedeutung einer guten körperlichen Verfassung des Kindes zum Zeitpunkt der Transplantation. Diese Studie (Projekt „Lebe[®]“) wird von der Friedrich und Louise Homann Stiftung, Hamburg, gefördert.

Literatur:

1. Brähler E (1992) Gießener Beschwerdebogen für Kinder und Jugendliche (GBB-KJ). Bern, Göttingen, Toronto: Verlag Hans Huber
2. Brähler E, Klaghofer R (2001) Konstruktion und teststatistische Prüfung einer Kurzform der SCL-90-R. Zeitschrift für klinische Psychologie, Psychiatrie und Psychotherapie 49: 115-124
3. Bullinger M, Kirchberger I (1998) SF 36 Fragebogen zum Gesundheitszustand-Manual. Göttingen: Hogrefe
4. Kaller T, Schulz K, Sander K, Boeck A, Rogiers X, Burdelski M (2005) Cognitive abilities in children after liver transplantation. Transplantation 79: 1252-6
5. Ravens-Sieberer U, Morfeld M, Stein R, Jessop M, Bullinger M, Thyen U (2001) Der Familien-Belastungs-Fragebogen (FABEL-Fragebogen). Psychother Psycho-som Med Psychol 51: 384-91
6. Schulz KH (2001) Transplantationspsychologie. Psychologische Aspekte der Lebertransplantation und der Organspende. Hamburg, Univ., FB Medizin, Habilitationsschrift
7. Schulz KH, Hofmann C, Sander K, Edsen S, Burdelski M, Koch U, Rogiers X (2001a) Lebendspende vs. Fremdspende - eine katamnestiche Studie lebertrans-

plantierter Kinder und ihrer Familien. *Psychother Psychosom Med Psychol* 51: 452-64

8. Schulz KH, Wein C, Boeck A, Rogiers X, Burdelski M (2003) Cognitive performance of children who have undergone liver transplantation. *Transplantation* 75: 1236-40

9. Stewart S, Kennard B, Waller D, Fixler D (1994) Cognitive Function in Children who receive organ transplantation. *Health Psychology* 13: 3-13

The SiLVER-study: Protocol, current status and outlook

A. Schnitzbauer, C. Zülke, I. Mutzbauer, H. J. Schlitt, E. K. Geissler
Regensburg

Objective: The primary objective of this study is to evaluate the anti-tumor effect of sirolimus-based immunosuppressive therapy in patients following liver transplantation (LT) for hepatocellular carcinoma (HCC), with regard to 5 year HCC recurrence-free patient survival.

Protocol: It is an open-labeled, randomized, clinical trial comparing sirolimus-containing versus mTOR-inhibitor-free immunosuppression in patients undergoing LT for HCC. It will be a 7-year study (in total), consisting of a 3-year enrollment period with a 5-year follow-up. Patients with a histologically confirmed HCC diagnosis will be randomized into 2 groups after liver transplantation. The first group will be maintained for the study duration on a center-specific mTOR-inhibitor-free immunosuppressive protocol. This control group of patients will be compared to a second group of patients that will be maintained on a center-specific mTOR-inhibitor-free immunosuppressive protocol for the first 4-6 weeks, at which time-point sirolimus will be incorporated into the regime either as a mono-therapy, or as a combination therapy with non-mTOR-based immunosuppression. A total of 482 patients will be required.

Current Status: At the end of March 2007 almost 100 patients were enrolled into the study. 25 centers from Austria, Australia, Belgium, Finland, Germany, Italy, Spain, Norway and Sweden were actively recruiting. France, the UK, Canada and the Netherlands, as well as additional sites from Spain and Italy are close to initiation. In the UK ethics submission process with national and local approval procedures is a complicated and time-consuming process. In Italy ethical procedures are not harmonized and inconsistent with the EU-Di-

rective 2001. In France and Spain complex legal requirements had to be implemented into the 3-way contract. Work in Canada had only been started in October 2006 and was pretty effective and fast. Delays in the Netherlands were caused by ethics and contract issues. In regards to safety within the study, approximately 400 AEs were documented so far and we received approximately 50 SAEs and no SUSAR until the end of March 2007, which does not seem to show safety differences between treatment groups so far.

Conclusion and Outlook: The current status and development as an investigator initiated study with a dramatically accelerated recruitment during the last 5 months would not be possible without the enormous commitment of participating sites and investigators. The future success of the study and safety of our patients is dependent from a perfectly harmonizing and communicating study group, including the University of Regensburg as the sponsor, the CRO as mediator between investigators and sponsor and highly motivated investigators putting patients into this pure scientific study.

Auswirkungen von MELD auf das Überleben nach Lebertransplantation und Entwicklung eines Scores zur Optimierung der Empfänger- auswahl anhand präoperativer prädiktiver Parameter

T. J. Weismüller, J. Prokein, H. Barg-Hock,
M. P. Manns, J. Klempnauer, T. Becker,
C. P. Strassburg
Hannover

Einleitung: Die zur Optimierung der bedürftigkeitsorientierten Allokation erfolgte Umstellung auf ein MELD-basiertes System verändert das Empfängerspektrum im Eurotransplant-Raum. Ein Einfluss der bevorzugten Transplantation von Patienten mit höherem MELD auf das postoperative Überleben ist umstritten. Angesichts der Organmangel-bedingten Triage-Situation sollte ein möglichst hohes Gesamtüberleben nach Transplantation ebenfalls Entscheidungskriterium bei der Empfänger-auswahl sein. Ziel dieser Analyse war es, den Einfluss von MELD auf das Outcome zu untersuchen sowie die Mortalität nach LTX beeinflussende präoperative Empfän-

ger-Faktoren zu identifizieren. Mittels dieser Faktoren wurde ein Score entwickelt, der bereits bei Listung oder Reevaluation vor LTX spenderunabhängig eine Aussage über das postoperative Outcome ermöglicht.

Methode: Analysiert wurden Daten von 133 Erwachsenen mit chronischem Leberversagen, die zwischen Mai 2004 und November 2005 transplantiert wurden. Die homogene Transplantationspraxis bezüglich Spenderorganen und Allokationskriterien während dieses Zeitraumes ermöglicht eine Analyse von Empfängerfaktoren. Biochemische Parameter wurden zum Zeitpunkt der letzten Reevaluation mindestens 1 Monat vor Transplantation erhoben. Überlebende und Verstorbene wurden mit uni- und multivariaten Methoden verglichen. Zur Validierung des anhand dieser Daten entwickelten Scores wurde ein Vergleichskollektiv von 87 Patienten, die vor und nach dem genannten Zeitraum transplantiert wurden, herangezogen.

Ergebnis: 133 Lebertransplantationen (63,91% Männer, Alter: 47,4±0,97 Jahre) erfolgten mit den Indikationen: autoimmun (28,6% davon 68,4% PSC), Virushepatitis (27,1%, davon 58,3% Hep. C), alkoholtox. Zirrhose (15%) u.a. Der mittlere MELD betrug 14,58 ±0,48. Das 12-Monatsüberleben betrug 81,2%, das Gesamtüberleben 79,7%. Haupttodesursache: Sepsis und Multiorganversagen. Patienten mit einem MELD>16 hatten ein 12-Monats- und Gesamtüberleben von je 71,7%; bei einem MELD< 16 betrug das 12-Monats-Überleben 86,2% (p=0,041) und das Gesamtüberleben 83,9% (p=0,087). Nach 12 Monaten verstorbene Empfänger waren älter (53,18±1,88 vs. 46,06±1,08 Jahre, p= 0,004), hatten vor Transplantation ein höheres Serumkreatinin (KREA) (160,4±37,4 vs. 77,7±3,0 µm, p=0,007) und eine niedrigere Cholinesterase (CHE) (2,9±0,4 vs. 3,7±0,2 kU/l, p=0,028). Eine Cox-Regressionsanalyse konnte KREA (p=0,004) und CHE (p=0,024) als unabhängige Parameter des Gesamtüberlebens identifizieren. Ein auf Alter, KREA und CHE beruhender Score zeigte angewandt auf das Vergleichskollektiv eine „Area under the ROC“ von 0,785. Bei einem Score < 1,75 betrug das Gesamtüberleben 88,9% vs. 46,7% bei einem Score >1,75 (p< 0,001).

Schlussfolgerung: Die MELD-basierte bedürftigkeitsorientierte Allokation droht bei einem aktuell kontrovers diskutierten Effekt von MELD auf die Mortalität nach Transplantation zu einer Verschlechterung des Gesamtüberlebens zu führen. Zur Optimierung der Empfänger Auswahl wurde

daher ein Score entwickelt, der spenderorganunabhängig bereits vor Transplantation Patienten mit einem hohen Mortalitätsrisiko nach LTX erkennt. Der ideale Transplantatempfänger sollte einen möglichst niedrigen Score bei hohem MELD aufweisen.

Prospective evaluation of biliary reconstruction with duct-to-duct anastomosis in adult living donor liver transplantation

*M. N. Scherer, T.-Y. Tsui, A. Schnitzbauer, H. J. Schlitt, A. Obed
Regensburg*

Background: Biliary reconstruction is still the Achilles' heel of adult living donor liver transplantation (LDLT) using right lobe graft. This study aims to investigate the feasibility of duct-to-duct choledochocholangiostomy in LDLT.

Methods: Duct-to-duct biliary reconstruction was performed in a cohort study with thirty LDLT using right lobe grafts between 2004 and 2006. Nineteen recipients (63.3%) had one graft bile duct. Eleven recipients (36.7%) had two or three graft bile ducts. The median follow up was 17 months.

Results: The overall biliary complication rate was 20%. Two recipients had biliary stricture (6.7%) and two recipients (6.7%) had biliary leakage in early posttransplant phase. Two recipients (6.7%) had biliary stricture in later posttransplant phase. No biliary complication-associated mortality was observed. On multivariate analysis, no risk factor associated with biliary complication was identified. The biliary complications were successfully treated with Roux-en-choledochojunostomy in early posttransplant phase and with endoscopic intervention in late transplant phase.

Conclusion: Duct-to-duct choledochocholangiostomy may represent a safe and feasible procedure for the biliary reconstruction in LDLT.

The issue of rescue allocation in liver transplantation within Eurotransplant: The Heidelberg experience

A. Nickkholgh, P. Schemmer, U. Hinz,
P. Sauer, J. Encke, A. Mehrabi, J. Weitz,
M. W. Büchler, J. Schmidt
Heidelberg

Introduction: Organ shortage has driven many transplant centers to extend their criteria for organ acceptance. Graft allocation policies have been modified accordingly. This report focuses on the impact of applying the so-called “rescue allocation” (RA) strategy in liver transplantation (LT) within the Eurotransplant (ET) area.

Methods: Liver grafts are considered for RA when the regular organ allocation is declined by at least three centers or is averted due to donor instability/unfavorable logistical reasons, thus entering a competitive or a single recipient rescue organ offer procedure, respectively. Between January 2004 and December 2006, we transplanted 85 RA livers after a total of 479 registered refusals within ET due to “poor donor quality” (PDQ, n=234), “poor organ quality” (POQ, n=70), “incompatible age/size match” (IA/SM, n=71), “recipient reasons: nonimmunological” (RRNI, n=24), “organizational reasons: inside the transplant center” (ORTIC, n=4), and other (n=76).

Results: Median cold ischemia time for RA grafts was 10 hr (range: 4-17). The indications for LT were: hepatocellular carcinoma (HCC, 44%), chronic liver disease (54%), including viral chronic active hepatitis (15%), and acute liver failure (2%). The MELD score was 13±7 (range: 6-40), and was 12±7 for HCC (p=ns). RA significantly decreased the median active waiting time for HCC patients (128 days) compared to other chronic liver diseases (333 days, p=0.0002). There were 3 primary nonfunctions (PNF). One-year patient and graft survival was 84% and 75%, respectively.

Leber-Spender mit Erweiterten Kriterien (ECD): Einfluss von kumulierten Risiken

C.-L. Fischer-Fröhlich, W. Lauchart
Stuttgart

Einleitung: Bei Verwendung von Lebern aus ECD besteht ein erhöhtes Risiko für eine primäre Nicht-Funktion des Transplantats (PNF). Die Bundesärztekammer legte 2004 fest, dass bei der Leber ein ECD vorliegt, wenn eines der folgenden Risiken beim Spender besteht: Gefahr der Krankheitsübertragung, hämodynamischer Einbruch, Alter > 65J., BMI > 30kg/m², Bilirubin > 3mg/dl, ASAT oder ALAT > 3*obere Normwert, Natrium > 165mmol/l, Tage auf Intensivstation >7, Verfettung > 40%. Untersucht wurde der Einfluss der Kumulation der genannten Risiken.

Methode: Bei 422 Spendern (1992-2004) mit 282 transplantierten Lebern (LTX) wurden die o.g. Risikofaktoren für ECD pro Spender aufsummiert, gruppiert und verglichen mit der Anzahl der transplantierten Lebern sowie der Ein-Jahres-Funktionsrate (all Fälle / zensiert für PNF). Grenzwerte für ECD wurden anhand von Receiver-Operating-Characteristics (ROC) ermittelt.

Ergebnis: Mit steigender ECD sank die Rate der transplantierbaren Lebern (Tabelle, p<0.0001), ähnlich verhielt sich die Ein-Jahres-Funktionsrate (zensiert für Fälle mit PNF: p<0.0001). Der beste Grenzwert, um abzuschätzen zu können, ob eine Leber verwendbar ist oder nicht, lag bei ECD von 0-1 vs. 2-5 (Sensitivität 55%, Spezifität 87%). Für die Ein-Jahres-Funktion lag diese Schwelle bei einer ECD von

Tab.: Spender vs. Leber verwendet (LTX)

ECD=0:	162 vs. 153 (95%)
ECD=1:	146 vs. 91 (62%)
ECD=2:	61 vs. 24 (39%)
ECD=3:	38 vs. 12 (32%)
ECD=4/5:	16 vs. 2 (13%)

Ein-Jahres-Funktionsrate: alle Fälle (alle Ursachen für Verluste)	
ECD=0: 72%	ECD=1: 70%
ECD=2: 75%	ECD=3: 58%
ECD=4/5: 0%	

Ein-Jahres-Funktionsrate zensiert für Fälle mit PNF	
ECD=0: 99%	ECD=1: 95%
ECD=2: 100%	ECD=3: 67%
ECD=4/5: 50%	

3. Bei allen Lebern mit intraoperativ erheblicher Verfettung (n=3) trat nach LTX eine PNF auf unabhängig von ECD. Hauptsächlicher Grund für den Ausschluss von Lebern war eine intraoperativ vorgefundene Verfettung oder Fibrose. Dies ließ sich anhand der nur präoperativ verfügbaren Daten nicht verifizieren.

Schlussfolgerung: Lebern von ECD sind für die LTX geeignet. Obwohl kumulierte „Spenderprobleme“ das Risiko für die PNF steigern, sollte man diese Organe berücksichtigen, um den Organmangel nicht zu verschärfen. Überlegenswert ist es, diese Lebern regional zu allozieren, um den Ischämie-Reperfusionsschaden gering zu halten.

Nutzen und Risiko von veno-venösem Bypass bei Lebertransplantationen – Heidelberger Erfahrungen

*K. Hoffmann, N. Hillebrand, U. Hinz,
P. Schemmer
Heidelberg*

Einleitung: Die Verwendung veno-venöser Bypasssysteme (VVB) reduzierte die, durch hämodynamische Instabilität bedingte, intraoperative Mortalität bei Lebertransplantationen. Hohe iatrogene Komplikationsraten in bis zu 30% der Fälle und verbesserte Operations- und Anästhesieverfahren stellen einen routinemäßigen Einsatz heutzutage jedoch in Frage. Ziel dieser Studie war es den Nutzen und das Risiko von veno-venösen Bypasssystemen bei Lebertransplantationen zu analysieren.

Methode: Prospektiv gesammelte Daten von 36 orthotopen primären Lebertransplantationen (Gruppe 1: LTx mit VVB; Gruppe 2: LTx ohne VVB) wurden untersucht. MELD score, Alter und Geschlecht wurden als Kriterien für die matched-pair Analyse verwandt. Indikation, Wartezeit, Urgency, Organ- und Patientenüberleben, Intensivaufenthalt, Beatmungsdauer, Komplikationen und post-operative Laborwerte wurden analysiert. Wilcoxon und Fisher's exact Test wurden für die statistische Analyse verwendet. Ergebnisse $p \leq 0.05$ wurde als signifikant gewertet.

Ergebnis: Indikation, Wartezeit und Urgency der LTx waren in beiden Gruppen gleich verteilt. Es zeigten sich keine Unterschiede in den kalten Ischämiezeiten der Organe. Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate wurden in Gruppe 1 signifi-

kant häufiger substituiert ($p \leq 0.05$), die anhepatische Phase und OP-Zeit waren in dieser Gruppe länger. Patienten der Gruppe 1 zeigten signifikant längere Intensivaufenthalte und Beatmungszeiten ($p \leq 0.05$). Komplikationen wie Blutungen, Galleleckage, initiales Organversagen und Indikation zur Re-LTx waren in beiden Gruppen gleich verteilt. Patienten der Gruppe 1 zeigten häufiger periphere Thrombosen und Lungenembolien ($p \leq 0.05$). Die postoperativen Leber- und Nierenfunktionsparameter zeigten keinen Unterschied. Das mediane Organ- und Patientenüberleben war in beiden Gruppen identisch.

Schlussfolgerung: Die Verwendung von veno-venösen Bypasssystemen bei der Lebertransplantation zeigt keine Vorteile im postoperativen Verlauf und dem Organ- oder Patientenüberleben. Bei zunehmender Verwendung von marginalen Spenderorganen sind lange anhepatische und warme Ischämiephasen sowie erhöhtes Blutungs- und Thromboserisiko durch Verwendung des VVB zu vermeiden. Die orthotope Lebertransplantation ohne Bypasssystem sollte heute der Behandlungsstandard sein.

Endoskopische und Interventionelle Therapie von Gallengangskomplikationen nach Lebertransplantation

*K. H. Weiss, D. Gotthardt, C. Riediger,
A. Schaible, P. Schemmer, J. Schmidt,
P. Sauer
Heidelberg*

Einleitung: Biliäre Komplikationen nach Lebertransplantation bleiben trotz Verbesserung der chirurgischen Technik, des perioperativen Managements und der Immunsuppression eine substantielle Ursache für die Früh- und Langzeitmorbidity der Patienten.

Methode: In einer retrospektiven Analyse untersuchten wir Häufigkeit und Art der biliären Komplikationen, mögliche Einflussfaktoren und die Ergebnisse der endoskopischen oder interventionellen Therapie (n=172 Patienten, insgesamt 198 orthotope Lebertransplantationen ohne Splitliver-Transplantation oder Leberlebendspenden, davon n=26 Retransplantationen; Patientenalter bei Transplantation 48 ± 12 Jahre; F:M 74:124; n=161 Choledochcholedochostomien, n=37 biliodigestive Anastomosen).

Ergebnis: Eine biliäre Komplikation einschließlich konservativ zu beherrschender Cholangitis wurde insgesamt bei 23,2%, eine Komplikation mit notwendiger Intervention bei 16,6% der Patienten beobachtet (Leckage 5,6%, Stenosen der Anastomose oder des Spender- D. choledochus 4,5%, intrahepatische Stenosen 4,5%, Biliome 2 %). Einziger prognostisch signifikanter Parameter für das Auftreten einer biliären Komplikation war die Re transplantation. Die primäre Erfolgsrate der endoskopischen Therapie (durch Endoprothese, Dilatation oder deren Kombination) lag bei 69%, die der perkutanen interventionellen Therapie bei 50%. Die Mortalität wurde durch das Auftreten einer biliären Komplikation nicht signifikant beeinflusst (kumulatives Überleben nach 3 J. 80% vs. 74%).

Schlussfolgerung: Die operative Revision einschließlich einer Re-Transplantation ist indiziert, wenn die endoskopischen und interventionellen Methoden nicht zum Ziel führen.

Glucocorticoid-induced therapy resistance in solid tumors - A role for recurrence of HCC in liver transplantation?

*I. Herr, H. Friess, M. W. Büchler
Heidelberg*

Introduction: Cortisone drugs are steroid hormones in the glucocorticoid (GC) family. These medicaments are not only used in liver transplantation to prevent graft rejection, but also widely in cancer treatment since GCs cause programmed cell death, or apoptosis, in transformed cells of the hematopoietic system. In addition, the drugs lessen side effects such as nausea and vomiting and protect against edema formation as well as allergies to specific chemotherapeutic agents. At the same time, GCs can decrease edema in normal body tissues affected by the tumor. These facts have provided a rationale for the use of steroid hormones to lessen the side effects of chemotherapy for hematologic and non-hematologic malignancies.

Methods: Clinically used GC derivatives were combined with various cytotoxic treatments and the effect on apoptosis, viability and cell cycle of carcinomas was evaluated using more than 150 fresh surgical specimen, xenografts on mice and established cell lines of a representative

spectrum of human solid malignant tumors. Comparative DNA-array analysis was performed to examine GC effects in carcinoma as compared to hematological tumor cells.

Results: Several clinically used GC derivatives inhibited the efficacy of a variety of cytotoxic anticancer agents in 91% of established cell lines, in 82% of surgical specimen and in all of five examined xenografts of solid malignant tumors. These results are in striking contrast to hematological cells where GCs induce apoptosis. GC-induced resistance occurred at clinically achievable peak plasma levels and below, lasted for a long time, but was reversible. By DNA-array analysis of carcinoma and lymphoid cells we found differential expression of molecules involved in apoptosis and signal transduction as the cause of cell type specific effects. Two non-steroidal antiemetic agents – a serotonin (5-HT3) and a neurokinin (NK1) receptor antagonist did not counteract anticancer treatment in the current setting.

Conclusions: However, scientists emphasize that it is too early to condemn GC therapy altogether, since it also has many positive effects in transplantation and cancer treatment. It is necessary to verify the assumptions reached from investigations with cell lines, pre-clinical xenograft studies, and weakly controlled retrospective studies in controlled prospective studies. Subsequently, it will have to be decided whether the treatment guidelines for transplantation and a number of solid tumors need to be modified. Our work opens avenues for prospective studies in patients and for mechanistic studies to examine GC-induced cell-type specific pro- and anti-apoptotic effects in greater detail.

References:

1. Herr I, Ucur E, Herzer K, Okouoyo S, Ridder R, Krammer PH, Knebel-Döberitz M and Debatin K-M (2003) Glucocorticoid co-treatment induces apoptosis resistance towards cancer therapy in carcinomas. *Cancer Res* 63: 3112-3120
2. Zhang C, Kolb A, Mattern J, Gassler N, Wenger T, Herzer K, Krammer PH, Debatin KM, Büchler MW, Friess H and Herr I (2006) Dexamethasone desensitizes hepatocellular and colorectal tumours toward cytotoxic therapy. *Cancer Letters* 242: 104-111
3. Herr I and Pfitzenmaier J (2006) Glucocorticoid use in prostate cancer and other solid tumours: implications for effectiveness of cytotoxic treatment and metastases. *Lancet Oncology* 7: 425-426
4. Herr I and Büchler M (2006) New in vivo results support concerns about harmful effects of cortisone drugs in the treatment of breast cancer. *Cancer Biol & Ther* 8: 941-942
5. Zhang C, Wenger T, Mattern J, Ilea S, Frey C, Gutwein P, Altevogt P, Bodenmüller W, Gassler N, Schnabel PA, Diene-mann H, Marmé A, Hohenfellner M, Haferkamp A, Pfitzenmaier J, Groene H-J, Kolb A, Büchler P, Büchler MW, Friess H, Rittgen W, Edler L, Debatin K-M, Krammer, PH, Rutz HP and Herr I (2007) Clinical and mechanistic aspects of glucocorticoid-induced chemotherapy resistance in the majority of solid tumors. *Cancer Biol & Ther* (in press)

Das Angiomyolipom der Leber - eine seltene Differentialdiagnose der Leberraumforderung

*C. Moench, Y. Bak, C. Strey,
W. O. Bechstein
Frankfurt a.M.*

Einleitung: Das Angiomyolipom ist ein typischer Tumor der Niere. In sehr seltenen Fällen tritt es auch als hepatisches Angiomyolipom auf. Weltweit sind unter 200 Fälle publiziert, die deutschsprachige Literatur umfasst 2 Fälle. Wir berichten über einen aktuellen Fall aus unserer Klinik.

Ergebnis: Eine 25-jährige Patientin stellt sich mit größenprogredienter Leberraumforderung (aktuell 8 x 10cm) zur chirurgischen Therapie vor. Bereits auswärtig war eine histologische Abklärung erfolgt, diese zeigte den Verdacht auf ein Adenom. Aufgrund der Nähe zum Leberhilus konnte der Tumor nur durch Hemihepatektomie rechts saniert werden. Histologisch zeigte sich ein Angiomyolipom der Leber. Der postoperative Verlauf und das Follow-up waren unauffällig.

Schlussfolgerung: Das hepatische Angiomyolipom sollte bei der Differentialdiagnose der Lebertumoren berücksichtigt werden. Aufgrund der potentiellen malignen Tendenz besteht die Indikation zur Operation. Die Präsentation skizziert das Krankheitsbild am eigenen Fall und fasst die Literatur zusammen.

Mesohepatectomy as a safe alternative to extended hemihepatectomy in central liver tumors

*Z. A. Mood, A. Mehrabi, N. Roshanaei,
P. Schemmer, J. Weitz, M. W. Buechler,
J. Schmidt
Heidelberg*

Introduction: Despite significant improvement of perioperative management in extended right and left hemihepatectomy, as the curative option for treatment of central liver tumors, the high morbidity and mortality rate is still an important obstacle. Mesohepatectomy, as a sectoral but not a segment-oriented resection, preserves up to 35% more functional liver tissue than either extended left or right hepatectomy. However, mesohepatectomy has not been generally applied, which might be partially due to the difficulty of this procedure as

a complex resection method. The aim of this study is to present our experience using mesohepatectomy for central liver tumors.

Methods: At our department, forty-nine consecutive patients (m/f = 33/16) with centrally located liver tumors underwent mesohepatectomy. The peri- and postoperative data were prospectively evaluated and analyzed regarding the morbidity and mortality rate. The mean age of the patients was 63.9 years. The indication of mesohepatectomy was liver metastasis (n=26), HCC (n=9), gallbladder carcinoma (n=5), cholangiocellular carcinoma (n=4), and others (n=5).

Results: Mean operative time was 226 min (range: 65-480 min) and mean intraoperative blood loss was 1149 ml (range: 100-5000 ml). Mean intra-operative RBC and FFPs transfusion was 3.8 units (range: 1-12 unit) and 4.8 units (range: 2-14 unit), respectively. Mean postoperative hospitalization was 16.7 days (range: 6-104 days). Postoperative surgical complications were seen in 11 patients (22.4%) including intra-abdominal abscess, bilioma or bile leakage, hemorrhage and hematoma, peritonitis due to intestinal perforation, and wound infection. Two patients (4.1%) died in the early postoperative phase. The causes of death were portal vein bleeding with severe coagulopathy due to liver failure in one patient and septic multiorgan failure in the other one.

Conclusion: Compared to the traditional extended liver resection mesohepatectomy leads to a clearly smaller parenchymal loss. Although it is a technically difficult operation and requires special attention to prevent surgical complications it is justified in selected patients, with centrally located tumors, as a safe alternative to extended liver resection. However, further prospective multicentric studies about advantages and disadvantages of this technique are required.

No septic complications in an hepatic pig model with prolonged survival

*A. Etspüler, C. Thiel, K. Knubben,
M. Morgalla, A. Königsrainer, M. Schenk
Tübingen*

Introduction: Despite the progress in intensive care therapy the acute liver failure (ALF) has still a high mortality. Due to a

depression of the immune system the risk of septical complications increases during anhepatic survival time. Aim of the present study was to investigate the course of inflammatory parameters in an anhepatic pig model.

Methods: 20 female pigs of the German landrace (30-35kg) underwent a total hepatectomy under fully sterile conditions. Animals were kept under deep narcosis with pressure controlled ventilation and received intensive care therapy including volume substitution with sodium chloride 0.9% and glucose 20%, hydroxyethylstarch 6%, fresh frozen plasma and erythrocyte units. All animals received daily 2g Ceftriaxon. Blood samples were taken every eight hours in order to measure leucocytes, TNF- α and IL-6. Body core temperature was recorded continuously by a rectal tube. Endotoxin (LPS) was measured by a modified LAL-Assay.

Results: All pigs died due to multi organ failure after a median of 49.5 ± 20.1 hours. Clinical signs of sepsis were not noticed in any case. Body temperature and leucocytes remained stable until death at $37.3 \pm 0.93^\circ\text{C}$ and $22661 \pm 5645/\mu\text{l}$ (normal up to $22000/\mu\text{l}$), respectively. Values of IL-6 and TNF- α showed no increase over the critical value of 1000 mg/L and 1000 ng/L. Endotoxin levels remained at the detection limit and increased the last 20 hours before exitus.

Conclusion: In our anhepatic pig model no direct or indirect signs of septical complications were observed. It can be postulated that a "protective hepatectomy" could prevent septical complications in ALF-syndrome.

Histological studies in various models of acute hepatic failure

*K. Knubben, C. Thiel, A. Etspüler,
A. Königsrainer, M. Schenk
Tübingen*

Objective: Several animal models have been developed for evaluation of acute hepatic failure. A differentiation of liver damage and regeneration is needed to evaluate the different models.

Methods: In 12 German landrace pigs (30-35 kg) hepatic failure was induced by acetaminophen 1g/kg b.w. (n=6), amanitin 0,15 mg/kg b.w. (n=2) or 0,35 mg/kg b.w. (n=2) or extended liver resection (n=2) with 3h hypoxia of the remaining segments. Hemalum-Eosin and immunohisto-

chemistry staining (Ki67 for regeneration and TUNEL-apoptosis staining) were performed in liver biopsies taken every 24 hours. Albumin, ALT, AST and liver depending clotting factors were measured every 8 hours.

Results: Liver biopsies of acetaminophen induced liver failure showed massive centrilobular necrosis 24 to 48 hours after intoxication which was confirmed by a significant decline of PT and albumin and a worsening clinical course. In the liver of surviving pigs a diffuse Ki67 expression in all over the periportal fields (positive cells per field: 24h: 5, 48h: 27 and 72h: 93) and a focal apoptosis was shown. After amanitin intoxication liver necrosis was seen between 48 and 72 hours, 24 hours later compared to acetaminophen. In animals with low toxin administration 20% Ki67-positive hepatocytes were observed 96h after intoxication, which leads to a functional recovery of liver depending clotting factors. In animals with high amanitin dosage, less than 5% Ki67-positive hepatocytes and massive congestion were observed. Disseminated apoptosis was detected. In the resection model, liver architecture in the remaining tissue was restored within 3 days after injury. No signs of liver cell necrosis were observed.

Conclusions: Maximum necrosis and localisation of liver damage and the potential of regeneration is specific to the mechanism of liver injury. This fact must be taken into consideration before therapeutic strategies and liver support devices will be tested.

Dosage depending acetaminophen-induced acute liver failure in pigs

*C. Thiel, K. Knubben, A. Etspüler,
M. Morgalla, A. Königsrainer, M. Schenk
Tübingen*

Objective: A reproducible pig model of acute liver failure due to intoxication for evaluation of therapeutic strategies and devices, omitting the variability induced by multiple non-liver injury sites (e.g. anaemia, cardiac failure), is urgently needed.

Methods: Twelve pigs underwent an intoxication with a single enteric acetaminophen bolus of 1500 mg/kg b.w.(n=3), 1250 mg/kg b.w. (n=3), 1000 mg/kg b.w. (n=6). Seven pigs received a bolus of 500 mg/kg b.w.(n=3) or 250 mg/kg b.w. (n=4) and af-

terwards blood levels of 300-400 mg/l acetaminophen were maintained by continuous enteric administration until acute liver failure occurred (decline of liver depending clotting factors and albumin). Pigs remained under deep narcosis with pressure controlled ventilation until death. Sodium chloride 0,9%, hydroxyethylstarch 6% were used for volume substitution and noradrenalin for hemodynamic stability. Parameters like heart rate, mean arterial pressure, pulse oximetry were continuously monitored, blood gas analysis was performed hourly and corrected as required. Acetaminophen blood levels, albumin, AST, ALT and liver depending clotting factors were measured every 8 hours after intoxication.

Results: All animals receiving 1500 mg/kg b.w. or 1250 mg/kg b.w. died within 11 ± 10 or 13 ± 7 hours caused by cardiocirculatory failure. Three of the pigs receiving 1000 mg/kg b.w. died due to acute liver failure within 30 ± 8 hours, but 3 animals recovered after severe liver damage and were killed after 48 hours. Animals with 500 mg/kg b.w. bolus and blood levels of 300-400 mg/l died after 21 ± 9 hours due to cardiac arrest. Pigs with 250 mg/kg b.w. bolus and blood levels of 300-400 mg/l survived minimum 27 and maximum 45 hours (mean 37 ± 7) and died due to acute liver failure.

Conclusions: A low acetaminophen bolus and continuous enteral administration adjusted to blood levels delivers a well reproducible pig model of acute hepatic failure with defined survival times.

Analyse der zellulären Anpassungsmechanismen humaner Hepatozyten nach Hypoxie und Reoxigenierung in Primärkultur durch 2-dimensionale Gelelektrophorese und Massenspektrometrie

*C. W. Strey, J. Gestrich,
R. Marquez-Pinilla, T. Beckhaus,
E. Oppermann, W. O. Bechstein
Frankfurt a.M.*

Einleitung: Der Prozess der Hypoxie und Reoxigenierung ist ein wesentlicher pathophysiologischer Stimulus und Noxe im Rahmen der Leber- und Hepatozytentransplantation. Die hierdurch angestoßenen

Anpassungs- und Schutzmechanismen auf zellulärer Ebene sind erst eingeschränkt beschrieben. Bislang wurde keine Analyse des Hepatozytenproteoms unter Hypoxie- und Reoxigenierungsbedingungen durchgeführt.

Methode: Primäre Hepatozytenkulturen von 4 Patienten wurden entweder einer 6-stündigen Hypoxie und anschließender 24-stündiger Reoxigenierung ausgesetzt oder unter Normoxie kultiviert. Prüf- und Kontrollkulturen zeigten keine unterschiedliche Vitalität. Anschließend wurden die Zellen lysiert und das zelluläre Proteom durch 2-D Gelelektrophorese aufgetrennt (ZOOM-Gel, pI 3-10, Färbung: SYPRO Ruby, jeweils Invitrogen). Auf diese Weise wurden ca. 450 Spots pro Gel identifiziert. Die Quantifizierung der Spots erfolgte densitometrisch (Phoretix 2D, Nonlinear Dynamics).

Ergebnis: 33 Spots aus der Hypoxie-Reoxigenierungsgruppe zeigten eine signifikante Änderung ihrer Dichte im Vergleich zur Kontrollgruppe. Gegenwärtig werden diese Spots nach Trypsin-Verdau mittels Massenspektrometrie (MALDI-ToF) zur Identifikation der zugrundeliegenden Proteine analysiert. Hierüber wird berichtet.

Schlussfolgerung: Die Identifikation von Veränderungen der Proteinexpression von Hepatozyten unter Einfluss der Hypoxie und Reoxigenierung kann Hinweise zur Verbesserung und Überwachung von Isolations- und Konservierungsbedingungen im Rahmen der Hepatozytentransplantation geben.

Stammspezifischer Unterschied bei der Fettleberinduktion mittels High Fat-Diät bei der Ratten – Histologische Untersuchungen

*S. Stöppeler, A. Zibert, D. Palmes,
E. Minin, H. Schmidt, H.-U. Spiegel
Münster*

Einleitung: Bei der Fettleberinduktion und Forschung bezüglich der nicht-alkoholischen Steatohepatitis werden mehrere, unterschiedliche Modelle eingesetzt. Aber auch der verwendete Stamm variiert. Bei der Fettleberinduktion mittels High Fat-Diät (70 % der Kalorien von Fett) zeigt sich in dieser Studie ein Unterschied in der histologischen Morphologie bei den unterschiedlichen Stämmen.

Methode: 36 männliche Ratten (5 Wochen alt) wurden in 3 Hauptgruppen unterteilt: I

Lewis, II Wistar und III Sprague Dawley. Diese Hauptgruppen wurden je nach Fütterung (a) Standardhaltungsdiät oder b) High Fat-Diät) in zwei Untergruppen à 6 Tieren unterteilt. Die Fütterungsdauer betrug 3 Wochen. Es erfolgten eine Blutabnahme und eine Leberbiopsie. Das Serum wurde laborchemisch auf folgende Parameter untersucht: Na, K, Harnstoff, Kreatinin, Bilirubin, AST, ALT, GT, AP, LDH, PCHE, Lipase und Albumin. Die Leberbiopsie wurde für die Histologie weiterverarbeitet und lichtmikroskopisch mittels H.E.-, Azan- und Ölrotfärbung auf Steatose, Entzündung und Fibrose untersucht.

Ergebnis: Nach High Fat-Diät trat in allen Tieren eine vermehrte Steatose auf. Vor allem bei den Sprague Dawley-Ratten zeigte sich zwischen den Fütterungsgruppen ein deutlicher Unterschied in der Fibrosetendenz und in der lobulären und portalen Entzündung. Bezüglich des Stammes zeigten sich nach Fettleberinduktion Unterschiede in der Größe der Fettvakuolen (mikrovesikulär beim Stamm Lewis, mikro- und makrovesikulär bei Wistar und Sprague Dawley-Ratten), in der Fibrosetendenz (Score 0-4; Lewis 0,83 +/- 0,753, Wistar 1,5 +/- 0, Sprague Dawley 2,00 +/- 0) und der lobulären (Score 0-3; Lewis 0,67 +/- 0,515, Wistar 0,67 +/- 0,516, Sprague Dawley 2,17 +/- 0) und portalen Entzündung (Score 0 oder 1; Lewis 0 +/- 0, Wistar 0,5 +/- 0,447, Sprague Dawley 1 +/- 0).

Prolongation of cold preservation dramatically decreases the survival rate and synthesis function after partial liver transplantation in the rat

*Y. Gu, U. Dahmen, O. Dirsch,
C. E. Broelsch
Essen*

Introduction: The aim of the present study was to assess the influence of cold ischemia time on small-for-size liver transplantation using a rat model.

Methods: Inbred male Lewis rats were subjected to 50% or 70% liver resection in donors and the partial liver grafts were transplanted into recipients. Livers were preserved with Ringer's solution at 4 degrees for 3 hours or 5 hours before transplantation. Animals were sacrificed on postoperative day 7. Study outcomes including survival time and liver function were investigated.

Results: Transplantation of a 50% partial liver graft undergoing 3 hours cold ischemia was well tolerated by all animals. Prolonged time of cold preservation (5 hours) was associated with an obvious decrease of animal survival (60%). Transplantation with a 30% liver graft undergoing 3 hours cold ischemia reduced the survival rate significantly compared to 50% liver transplantation (50% vs. 100%, $p < 0.05$). Prolonging the cold preservation of a 30% graft (5 hours) dramatically decreased the survival rate again (30%, $p < 0.05$). Total protein and fibrinogen levels were significantly decreased in recipients with 5 hours cold ischemia compared to recipients with 3 hours cold ischemia in both 50% partial liver Transplantation group and 30% liver transplantation group, $p < 0.05$.

Conclusion: Sustained periods of cold preservation significantly impaired the animal survival and synthesis function of the grafts. Cold ischemia tolerance of the liver grafts is liver mass dependent.

Funktionelle Rekonstitution der durch Acetaminophen (APAP)-geschädigten Mausleber durch in vitro hepatozytär differenzierte mesenchymale Stammzellen aus humanem Knochenmark

*B. Christ, I. Aurich, H. Aurich, M. Sgodda,
L. P. Müller
Halle/S.*

Einleitung: Mesenchymale Stammzellen aus humanem Knochenmark (hBM-MSC) besitzen multiples Differenzierungspotential und hohe Proliferationskapazität in vitro. Daher könnten sie als Ausgangsmaterial für die Herstellung von Zellen mit hepatozytären Eigenschaften dienen, die in der Zelltherapie bei Lebererkrankungen eingesetzt werden könnten.

Methode: Mesenchymale Stammzellen wurden aus der mononukleären Zellfraktion des humanen adulten Knochenmarks mittels Dichtegradientenzentrifugation und Plastikadhärenz angereichert. Die isolierte Zellfraktion war praktisch frei von hämatopoetischen Zellen. Die Differenzierung zu hepatozytären Zellen erfolgte durch Zugabe von HGF und EGF für 14 Tage im Kulturmedium und wurde durch den Nachweis hepatozytenspezifischer Transkripte über RT-PCR bestätigt. Immundefizienten Pfp/Rag2^{-/-} Mäusen wurden 600 mg APAP/kg Körpergewicht i.p.

verabreicht und 20 h später eine Teilhepatektomie vorgenommen. Hepatozytär differenzierte hMSC wurden über die Milz in die Leber appliziert und die Integration humaner Zellen im Empfängerlebergewebe nach 12 Wochen immunhistochemisch nachgewiesen.

Ergebnis: hBM-MSC differenzierten in vitro zu hepatozytären Zellen und exprimierten die leberspezifischen Marker Connexin 32, Albumin, Transferrin, PCK1, Carbamoylphosphat synthetase und HepPar1. Unter der Kontrolle des hepatozyten-spezifischen Promotors der PCK1 exprimierten die differenzierten Zellen GFP. Die differenzierten Zellen wurden in die Lebern von mit 600 mg/kg APAP vorbehandelten immundefizienten Mäusen transplantiert. 12 Wochen nach Transplantation konnten humane Zellen anhand der Expression der humanspezifischen Marker HepPar 1 und Albumin im ansonsten negativen Mauslebergewebe nachgewiesen werden. Der Nachweis humanen Albumins im Serum der Mäuse zeigte, dass die integrierten Zellen funktionell waren.

Schlussfolgerung: Mesenchymale Stammzellen aus Knochenmark sind zur hepatozytären Differenzierung befähigt. Damit eignen sich hMSCs als Ausgangsmaterial für die Herstellung von funktionellen Hepatozyten in vitro, die nach Transplantation in einer akut geschädigten Empfängerleber funktionell integrieren und somit zur Leberregeneration beitragen könnten.

On the TRAIL to therapeutic intervention in liver disease

I. Herr, P. Schemmer, M. W. Büchler
Heidelberg

Introduction: Apoptosis is a fundamental process in tissue homeostasis and is necessary for the balance between cell loss and cell gain in normal tissue. Apoptosis is the nature's way of eliminating unwanted, senescent, virally-infected and damaged cells from multicellular organisms. The liver is no exception, and tissue repair, inflammation, regeneration, and fibrosis may all be triggered by apoptosis. Apoptosis is the first cellular response to many toxic events, and accompanies viral hepatitis, alcohol-induced liver disease, nonalcoholic fatty liver disease, cholestatic liver disease, and ischemia/reperfusion injury. Moreover, hepatocyte apoptosis is significantly increased in patients with alcoholic

hepatitis and nonalcoholic steatohepatitis, and correlates with disease severity and hepatic fibrosis. Thus, dysregulation of apoptosis is a principal mechanism contributing to many liver diseases including both, acute liver injury and chronic liver diseases.

Methods: An overview and update of the literature on role of apoptotic processes with emphasis to the death ligand TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in liver disease will be reviewed and pro- and antiapoptotic properties of TRAIL, its involvement in liver injury, as well as its potential as therapeutic agent in fibrosis and HCC will be discussed.

Results: To avoid the deleterious side effects of apoptosis stimuli on healthy liver tissue, substances with specific antitumor activity but without high toxicity to normal cells are needed. The death ligand TRAIL may fulfill these requirements, since no toxic effects have been observed in either experimental animals or in primates; as a result, clinical trials have been initiated with the recombinant molecule.

Conclusion: Several contradictory and confusing data have not yet been resolved or placed into perspective, such as the influence of factors which determine TRAIL sensitivity of target cells, including the tumor microenvironment or cirrhotic tissue.

References:

1. Wenger T, Mattern J, Penzel R, Gassler N, Haas T, Sprick M, Walczak H, Krammer PH, Debatin K-M and Herr I (2006) Resistance by intracellular retention of TRAIL receptors by lentiviral TRAIL transfer. *Cell Death and Differentiation* 13: 1740-1751
2. Wenger T, Mattern J, Haas TL, Sprick MR, Walczak H, Friess H, Büchler MW, Debatin K-M and Herr I (2007) Transduction-dependent and -independent induction of apoptosis by lentiviral TRAIL renders tumour therapy ineffective in vivo. *Cancer Gene Therapy* (in press)
3. Ingrid Herr, Peter Schemmer and Markus W. Büchler (2007) On the TRAIL to therapeutic intervention in liver disease. *Review Article, Hepatology* (in press)

Mesenchymal stem cells for treating Wilson's disease

V. Sauer, A. Zibert, J. Haberland,
T. Möllers, P. Berkes, N. Senninger,
H.-U. Spiegel, J. Haier, H. H.-J. Schmidt
Münster

Einleitung: Mesenchymale Stammzellen (MSC), die aus dem humanen Knochenmark isoliert werden können, stellen eine attraktive therapeutische Alternative für die Transplantation von Hepatozyten bei monogenetisch bedingten Lebererkrankungen dar. Ziel der Untersuchungen ist

es, das leberspezifische, regenerative Potenzial multipotenter Stammzellen in dem M. Wilson Rattenmodell (LEC) zu überprüfen.

Methode: Aus unterschiedlichen gesunden Spendern wurden mononukleäre Zellen kultiviert und mittels Durchflusszytometrie und Real-time RT-PCR analysiert. Die cDNA für das humane ATP7B Gen sowie für das ADN wurden in unterschiedliche retrovirale Vektoren kloniert, die eine hohe Transgenexpression nach Transduktion von Stammzellen erlauben. Die Transgenexpression wurde durch Western-Blot, ELISA und RT-PCR analysiert.

Ergebnis: Kultivierte MSC aus humanem Knochenmark exprimieren charakteristische Oberflächenantigene (CD45-, CD34-, CD14-, CD29+, CD90+, CD44+, CD166+ und CD105+). Markergene für Pluripotenz, wie Oct-4 und Nanog, sowie andere charakteristische Marker wurden mittels einer Real-time RT-PCR Analyse in diesen Zellen nachgewiesen. Die kultivierten MSC wurden *in vitro* zu Hepatozyten-ähnlichen Zellen differenziert. Nach 10-12 Tagen stellte sich in der Zellpopulation eine signifikante Veränderung der Zellmorphologie von spindelförmig zu polygonalem Zelltyp ein, der typisch für adulte Hepatozyten ist. RT-PCR Analysen ergaben, dass diese Zellen im Vergleich zu nicht hepatozyten differenzierten MSC die Expression von frühen (AFP, CK19, CK7) sowie auch späten Hepatozytenmarkern (CYP, CX32, CK18, Albumin) über mehrere Größenordnungen heraufregulierten. Retrovirale Vektoren, die als Fremdgen das Kupfertransportprotein ATP7B bzw. das antifibrotisch wirkende Hormon Adiponektin (ADN) tragen, wurden hergestellt und die Expression in Zielzellen überprüft.

Schlussfolgerung: MSC können mit hoher Effizienz zu Hepatozyten-ähnlichen Zellen differenziert werden, die funktionell adulten Hepatozyten zu entsprechen scheinen und für zellbasierte Verfahren zur Therapie von Lebererkrankungen eingesetzt werden können.

Literatur:

1. Gastroenterology (2002) 122: 438
2. Schwartz et al. (2002) J Clin Invest 108: 1291
3. Sato et al. (2005) Blood 106: 756

Diagnostic criteria for acute liver failure due to Wilson disease

U. Merle, C. Eisenbach, O. Sieg,
W. Stremmel, J. Encke, U. Merle
Heidelberg

Introduction: The lack of sensitive and specific criteria for the rapid diagnosis of FWD has made this disease quite difficult to identify. This complicates the potential decisions concerning liver transplantation and the initiation of medical therapy with chelating agents for WD. In our study, we addressed clinical and biochemical differences between patients with FWD and those with acute liver failure of other etiologies than WD to characterize variables for a rapid diagnosis.

Methods: We compared findings of patients presenting with acute liver failure due to Wilson disease to those with acute liver failure of other etiologies.

Results: Previously described criteria such as low alkaline phosphatase activity, low alkaline phosphatase to total bilirubin ratio or high AST to ALT ratio failed to identify patients with acute liver failure due to Wilson disease (FWD). Significantly different were low ALT and AST activities (53 ± 43 vs 1982 ± 938 , $P < 0.0001$ and 87 ± 44 vs 2756 ± 2941 , $P = 0.037$, respectively), low choline esterase activity (1.79 ± 1.2 vs 4.30 ± 1.2 , $P = 0.009$), high urine copper concentrations (93.4 ± 144.0 vs 3.5 ± 1.8 , $P = 0.001$) and low hemoglobin (7.0 ± 2.2 vs 12.6 ± 1.8 , $P < 0.0001$) in patients with acute liver failure caused by Wilson disease compared to other etiologies. Interestingly, 4 out of 7 patients with acute liver failure due to Wilson disease survived without liver transplantation.

Conclusion: In acute liver failure, these criteria can help establishing a diagnosis of Wilson disease. Where applicable slit-lamp examination for presence of Kayser-Fleischer rings and liver biopsy for determination of hepatic copper concentration still remain important for the diagnosis of acute liver failure due to Wilson disease. The need for liver transplantation should be evaluated carefully as the prognosis is apparently not necessarily fatal.

References:

1. Leventhal RL, Gavalier JS, Cadoff EM, Van Thiel DH (1991) Clinical differentiation of fulminant Wilsonian hepatitis from other causes of hepatic failure. Gastroenterology 100: 1129-1134 [PMID: 2001814]
2. Nazer H, Ede RJ, Mowat AP, Williams R (1986) Wilson's disease: clinical presentation and use of prognostic index. Gut 27: 1377-1381 [PMID: 3792921]
3. Sallie R, Katsiyiannakis L, Baldwin D, Davies S, O'Grady J, Mowat A, Mieli-Vergani G, Williams R

(1992) Failure of simple biochemical indexes to reliably differentiate fulminant Wilson's disease from other causes of fulminant liver failure. *Hepatology* 16: 1206-1211 [PMID: 1427659]

4. Shaver WA, Bhatt H, Combes B (1986) Low serum alkaline phosphatase activity in Wilson's disease. *Hepatology* 6: 859-863 [PMID: 3758940]

Octanoate-and N-acetyltryptophane free albumin (Hepalbin) as a new intravenous therapy to improve patients albumin binding capacity and reduce risk of hepatic encephalopathy in liver failure

J. Stange, S. Liebe, J. Emmerich,
E. Reisinger, E. Klar, W. Schareck,
S. Klammt, R. Schmidt,
G. Noeldge-Schomburg, S. Mitzner,
J. Rozga
Rostock

Introduction: Patients with hemodynamic instability due to liver failure benefit from albumin administration, especially in hepatorenal syndrome, spontaneous bacterial peritonitis and after paracentesis. Also, emerging therapies for extracorporeal detoxification as liver assist devices use albumin as a detoxification (MARS) or plasma replacement (SEPET) tool. Unfortunately, commercial albumin solutions contain octanoate and N-Acetyltryptophane which are known to accumulate in liver failure due to disturbed metabolism. In liver failure both substances are known to be associated with hepatic encephalopathy and hemodynamic deterioration (1-7). The goal of this work was to investigate a new way to optimize albumin for liver failure patients who are candidates for liver transplantation.

Methods: A bed side, nanostructured adsorbent based Infusion line was tested for its capability to remove Octanoate and N-Acetyltryptophane contaminations from commercial albumin preparations to increase albumin tolerability for patients with liver disease. Besides Octanoate and N-Acetyltryptophane concentration, the binding capacity of the Benzodiazepine binding site (which binds both substances) was measured.

Results: During a 30 minute bed-side infusion process, Octanoate and N-Acetyltryptophane were reduced in commercial albumin solutions „in line“ from initially 5.3 to less than 0.5 mol/mol albumin. The effect on the albumin binding capacity was

measured in vitro and revealed a normalization of the binding capacity from initially less than 50% to values comparable with plasma albumin from healthy donors. Addition of OCT- and NAT-free albumin (Hepalbin) to patients plasma improved patients Albumin Binding Capacity significantly.

Conclusion: The efficacy of purified albumin to improve the hemodynamic impairment and reduce the risk of hepatic encephalopathy in liver failure patients is ready to be tested in a clinical set up.

References:

1. Mitkov D (1993) The role of the octanoic fatty acid in the pathogenesis of the metabolic alkalosis in experimental liver failure. *Folia Medica (Plovdiv)* 35: 23-27
2. Olson JE, Holtzman D, Sankar R, Lawson C, Rosenberg R (1989) Octanoic acid inhibits astrocyte volume control: implications for cerebral edema in Reye's syndrome. *J Neurochem* 52: 1197-1202
3. Parker WD Jr., Haas R, Stumpf DA, Eguren LA (1983) Effects of octanoate on rat brain and liver mitochondria. *Neurology* 33: 1374-1377
4. Wojtczak L, Schönfeld P (1993) Effect of fatty acids on energy coupling processes in mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1183: 41-57
5. Curzon G, Knott PJ (1977) Environmental, toxicological and related aspects of tryptophan metabolism with particular reference to the central nervous system. *CRC Crit Rev Toxicol* 5: 145-187
6. Ono J, Hutson DG, Dombro RS, Levi JU, Livingstone A, Zeppa R (1978) Tryptophan and hepatic coma. *Gas-troenterology* 74: 196-200
7. Kristev A, Mitkov D, Lukanov J (1992) Effects of the medium chain octanoic fatty acid on the contractile activity of vascular smooth muscle tissues. *Folia Medica (Plovdiv)* 1: 12-18
8. Klammt S et al. (2007) Albumin binding function is reduced in patients with decompensated cirrhosis and correlates inversely with severity of liver disease assessed by MELD. *European Journal Gastroenterology and Hepatology*

Green tea extract ameliorates liver ischemia-reperfusion injury in rats

A. Nickkholgh, R. Liang, M. Kern,
H. Schneider, S. Benzing, A. Mehrabi,
M.-M. Gebhard, J. Schmidt, M. W. Büchler,
P. Schemmer
Heidelberg

Introduction: Green tea (*Camellia sinensis*) and its polyphenolic constituents have been shown to be potent scavengers of reactive oxygen species. Thus, this study was designed to assess its effects after liver ischemia-reperfusion.

Methods: Fasted rats were gavaged with different concentrations of green tea extract (GTE) 2 hours before 90 minutes of warm ischemia of the left lateral liver lobe

(30% of liver). Controls were given the same volume of GTE-vehicle (normal saline). After reperfusion, transaminases, liver histology, hepatic microcirculation, and both phagocytosis of Kupffer cells and expression of TNF α to index cellular activation were investigated. Analysis of variance (ANOVA) followed by t test or Fisher's exact test were used as appropriate. Results are presented as mean \pm SEM.

Results: After 90 minutes of warm ischemia AST, ALT and LDH increased dramatically to 1614 \pm 254 / 1559 \pm 164 U/l, 1770 \pm 472 / 1213 \pm 182 U/l and 7191 \pm 2076 / 852 \pm 116 U/l at 2 / 6 hours, respectively. GTE (200 mg/kgBW) greatly prevented this increase in a dose dependent manner by 21% to 51% ($p < 0.05$) and 29% to 34% ($p < 0.05$), respectively. Histology confirmed the protective effects while both TNF- α expression and phagocytosis of latex beads by Kupffer cells were significantly reduced. In parallel, in vivo microscopy revealed an improved flow velocity of red blood cells as well as acinar and sinusoidal perfusion after GTE ($p < 0.05$).

Immune monitoring in patients with combined mycophenolate mofetil and low dose calcineurin inhibitor therapy

V. Cicinnati, Z. Yu, C. G. Klein, A. Frilling, G. Gerken, C. E. Broelsch, S. Beckebaum Essen

Background: Long term complications of calcineurin inhibitors (CNI) have a major impact on morbidity of liver transplant recipients. Immunosuppressive drugs are regularly used in combination for reducing the adverse effects of each individual drug. Aim: To investigate the impact of combined mycophenolate mofetil (MMF) and low dose CNI therapy on T cell function in vivo and in vitro.

Methods: Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated from 32 liver transplant recipients at baseline and 12 months after conversion to MMF/low dose CNI regimen. T cell frequencies, phenotype and expression of activation markers were analyzed by flow cytometry. For in vitro studies freshly isolated PBMC from healthy volunteers were treated with mycophenolic acid (MPA), cyclosporine A (CsA), tacrolimus (Tac) and combined CsA/MPA or Tac/MPA in order to access the effect on T cell proliferation, expressi-

on of activation markers and of nuclear factor of activated T cell (NFAT)-regulated cytokines.

Results: Combined MMF and low dose CNI therapy in vivo leads to reduction of the percentages of CD8 $^{+}$ and CD8 $^{+}$ CD56 $^{+}$ T cells, to inhibition of T cell activation and to an increase of circulating FOXP3 $^{+}$ CD25 $^{+}$ CD4 $^{+}$ regulatory T cells (Treg) as compared to CNI monotherapy. MPA stops the cell cycle of activated T cells at G0/G1 phase in vitro; whereas MPA and CNI each individually inhibit the expression of T cell activation markers, and this effect is enhanced by combined exposure to MPA and CNI. Low doses of CNI strongly inhibit interleukin (IL)-2, IL-4, IL-10 and interferon (IFN)- γ production by T cells in vitro.

Conclusions: Combined MMF and low dose CNI administration has synergistic effects by a) decreasing the percentages of circulating NKT and cytotoxic T cells, b) increasing the number of circulating Treg cells, c) blocking the T cell proliferation and d) decreasing NFAT-regulated gene and activation marker expression in T cells. Immune monitoring may facilitate optimization of the immunosuppressive regimen with minimization of drug related adverse effects without increasing the risk of cellular rejection.

Obere GI-Blutung als Erstmanifestation einer chronischen Pfortaderstenose nach laparoskopischer Cholezystektomie und Therapie mittels Ballondilatation, ein case report

S. Minouchehr, M. Hoppe-Lotichius, N. Kudelin, G. Otto, M. Pitton Mainz

Einleitung: Eine 41-jährige Patientin wurde erstmalig mit oberer GI-Blutung auffällig. Die Umfelddiagnostik ergab Ösophagus- und Fundusvarizen als Zeichen einer portalen Hypertension. CT-morphologisch war eine Pfortaderstenose kurz vor der Bifurkation zu sehen. In der Anamnese war lediglich von einer laparoskopischen Cholezystektomie bei einer akuten Cholezystitis 4 Jahre vor dem Aufnahmezeitpunkt zu berichten. Intraoperativ war die Gallenblase stark entzündet und der Gallenblasenhals mit dem Peritoneum ver-

wachsen. Das Herauslösen der Gallenblase war jedoch retrograd ohne besondere Vorkommnisse erfolgt.

Methode: Die bekannte Pfortaderstenose wurde radiologisch mittels direkter Portographie weiter abgeklärt. Die simultane Druckmessung zwischen der Lebervene und intrahepatischen Pfortaderästen ergab keinen signifikanten Druckunterschied (Druckgradient: 3 mmHg). Die Druckmessung prä- und poststenotisch jedoch zeigte eine Differenz von 27mm Hg. In derselben Sitzung erfolgte die Therapie mittels Ballondilatation. Am Ende der Sitzung war der Druck im Pfortadersystem zwischen dem Pfortaderhauptstamm und den intrahepatischen Pfortaderästen ausgeglichen.

Ergebnis: Die Verlaufskontrolle mittels Computertomographie nach 6 Wochen zeigte eine minimale Reststenose der

Pfortader ohne hämodynamische Relevanz und einen deutlichen Rückgang der Ösophagus- und Fundusvarizen. In der endoskopischen Kontrolle nach 12 Wochen war eine vollständige Rückbildung zu sehen. Eine Antikoagulation mittels oraler Thrombozytenaggregationshemmer wurde eingeleitet.

Schlussfolgerung: Wir berichten über eine Patientin mit einer benignen Pfortaderstenose, die erstmals 4 Jahre nach einer laparoskopischen Cholezystektomie mit oberer GI-Blutung auffällig wurde. Durch entsprechende diagnostische Abklärung mit Ausschluss einer intrahepatischen Ursache konnte eine kausale Therapie erfolgen, sodass im weiteren Verlauf die Symptome rückläufig waren. Die Patientin befindet sich in beschwerdefreiem Zustand.

Michael Borte, Karsten Conrad, Volker Schuster, Ulrich Sack (Hrsg.)

Pathogenese, Diagnostik und Therapie immunologischer Erkrankungen im Kindesalter

Mit dem Buch „Pathogenese, Diagnostik und Therapie immunologischer Erkrankungen im Kindesalter“ erscheint im Rahmen der Immundiagnostischen Bibliothek bereits nach drei Jahren der zweite Band, der sich mit immunologischen Erkrankungen in der Pädiatrie befasst. Die Beiträge präsentieren ein breites Spektrum von Themen der pädiatrischen Immunologie: von autoinflammatorischen über Autoimmun- und Immundefekterkrankungen bis hin zur immunologischen Labordiagnostik im Kindesalter.

Das Kapitel I beginnt mit kritischen Übersichten zur Ätiopathogenese, Diagnostik und Therapie von autoinflammatorischen Erkrankungen und zur Bedeutung von Autoantikörpern in der Prädiktion und Frühdiagnostik von Autoimmunerkrankungen. Daran anschließend werden die Relevanz eines CD45RA-Splicing-Defekts als genetischer Risikofaktor für Autoimmungeschehen und die Bedeutung regulatorischer T-Zellen bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen diskutiert. Im Kapitel II werden eine neue Behandlungsform bei primärem Antikörpermangelsyndrom, die komplexe Regulation der zellulären Immunantwort bei infektiöser Mononukleose sowie Prinzipien für Schutzimpfungen bei Patienten mit chronischen Erkrankungen und unter Immunsuppression behandelt. Kapitel III beschäftigt sich mit Innovationen im Bereich der Labordiagnostik wie Miniaturisierung der Diagnostik, Charakterisierung neuer diagnostischer Parameter, Frühdiagnostik allergischer Erkrankungen, Bestimmung des Differentialblutbildes aus geringen Blutvolumina, kostengünstiges Monitoring bei HIV-infizierten Patienten sowie Untersuchungen zur zellulären Immunreaktivität mittels EliSpot. Das Laborkapitel wird abgerundet durch Übersichten zum diagnostischen Vorgehen bei Milchunverträglichkeit und Typ I-Allergie.

Wie schon bei dem Band „Immundiagnostische Aspekte der Pädiatrie“ ist auch hier eine vollständige Darstellung des Gebietes der pädiatrischen Immunologie nicht Ziel des Buches, sondern die Vorstellung interessanter Aspekte und Ansätze, von denen in naher Zukunft weitere Entwicklungen zu erwarten sind. Dass dieses vierte Buch der „Immundiagnostischen Bibliothek“ schon das zweite pädiatrisch orientierte ist, zeigt die große Aufmerksamkeit, die diesem Fachgebiet aus Sicht der Herausgeber gewidmet werden sollte. Weitere Informationen sind auf der Homepage der Gesellschaft zur Förderung der Immundiagnostik e. V. zu finden (<http://www.GFID-eV.de>).

182 Seiten, ISBN 978-3-89967-365-4, Preis: 20,- Euro

PABST SCIENCE PUBLISHERS

Eichengrund 28, 49525 Lengerich, Tel. ++ 49 (0) 5484-308, Fax ++ 49 (0) 5484-550,

E-Mail: pabst.publishers@t-online.de – Internet: www.pabst-publishers.de

3-D-Visualisierung der Leber

Eine 3D-CT-Volumen-/ Funktionsplanung vor Leberteilresektionen mit Hilfe des neuen LiMAX-Tests ermöglicht die postoperative Leberfunktion vorherzusagen

*M. Stockmann, B. Riecke, M. Fricke,
S. Niehues, P. Neuhaus
Berlin*

Einleitung: Ein postoperatives Leberversagen ist eine gefürchtete Komplikation speziell nach ausgedehnten Leberteilresektionen. Sowohl das Resektionsausmaß als auch eine mögliche Vorschädigung der Leber sind hierbei zwei wesentliche Parameter für die postoperativ verbleibende Leberfunktion und damit den postoperativen Verlauf. In dieser Studie soll gezeigt werden, dass eine CT-Volumen-Analyse zusammen mit dem LiMAX-Test eine genaue Vorhersage der postoperativen Leberfunktion ermöglichen kann.

Methode: 19 Patienten, die ein Leberteilresektion unterschiedlichen Ausmaßes erhielten, wurden in diese Untersuchung eingeschlossen. Präoperativ wurde das Lebervolumen mittels 3D-CT-Analyse berechnet, das Resektatvolumen wurde intraoperativ gemessen. Die Leberfunktion wurde mittels des neuen LiMAX-Test vor und direkt nach der Operation gemessen. Weiterhin wurde die Leberfunktion über 10 Tage postoperativ verfolgt. Der LiMAX-Test beruht auf der enzymkinetischen Analyse bei zumindest kurzzeitiger Sättigungskinetik nach intravenöser Bolusinjektion von ^{13}C -Methacetin (2mg/kg KG). Der einzige geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist die Demethylierung durch das CYP1A2. Das entstehende $^{13}\text{CO}_2$ wird in der Ausatemluft online mit der nichtdispersiven isotopelektiven Infrarotspektroskopie (NDIRS) gemessen.

Ergebnis: Die LiMAX-Messungen waren in jeder klinischen Situation valide durchführbar. Das berechnete Rest-Lebervolumen (in %) und die verbliebene Rest-Leberfunktion (in %) zeigten eine hochsignifikante Korrelation von $r=0,931$ ($p > 0,0001$). Im postoperativen Verlauf ließ sich die Leberregeneration im LiMAX-Test gut verfolgen. Anhand des direkt postoperativen LiMAX-Wertes konnte eine Subgruppe kritischer Resektionen im Verlauf

klar von den anderen Patienten unterschieden werden.

Schlussfolgerung: Vor Leberteilresektionen kann eine präoperative Volumen-/ Funktionsplanung der Resektion erheblich zur sicheren Durchführung der Operation speziell in kritischen Situationen beitragen. Auf der anderen Seite kann hierdurch auch die Inzidenz einer schweren postoperativen Leberinsuffizienz mit der entsprechenden Mortalität gesenkt werden. Postoperativ scheint außerdem eine Risikostratifizierung und eine Planung der Intensivtage anhand des LiMAX-Testes möglich.

Computergestützte Operationsplanung für die Leberchirurgie - vom Algorithmus zur klinischen Anwendung

*R. Tetzlaff, M. Schöbinger, I. Wolf,
H.-U. Kauczor, L. Grenacher,
M. W. Buechler, H.-P. Meinzer
Heidelberg*

Einleitung: Computergestützte Operationsplanungssysteme waren in den letzten 10 Jahren Gegenstand intensiver interdisziplinärer Forschung. Insbesondere in der Viszeralchirurgie, wo z.B. die individuelle Variabilität der Leber hohe Anforderungen an den Chirurgen stellt, können solche Methoden eine wertvolle Hilfe für den Operateur darstellen. Einige Systeme [1,2,3] sind mittlerweile so weit ausgereift, dass der Schritt in die klinische Praxis vollzogen werden konnte. Der Beitrag stellt die aktuellen Möglichkeiten der Leberoperationsplanung am Beispiel des am DKFZ Heidelberg in Kooperation mit der Chirurgischen Universitätsklinik Heidelberg entwickelten Systems vor.

Methode: Die Erstellung einer computergestützten Operationsplanung folgt einem mehrstufigen Workflow. Ausgangspunkt ist die routinemäßig erstellte präoperative mehrphasige Computertomographie, welche für die Anforderungen der digitalen Aufbereitungen optimiert werden kann. Für die Darstellung der Gefäßbäume sind insbesondere die venöse und arterielle Phase von Bedeutung, eine Darstellung der Gallengänge wird vorwiegend für die Leber-Lebendspende benötigt. In einem ersten Schritt erfolgt die logische Zuordnung

von Bildpunkten zu anatomischen Strukturen, im Folgenden Segmentierung genannt. Hierzu wird auf interaktive schichtbasierte Methoden zurückgegriffen. Verfahren, die dies weitgehend automatisieren, befinden sich aber in der Entwicklung. Segmentiert werden die Leber, die Gallenblase als anatomischer Marker sowie eventuell vorhandene Tumore. Darauf aufbauend werden die in- und extrahepatischen Gefäße mit Hilfe eines dreidimensionalen Bereichswachstumsverfahrens extrahiert und in eine symbolische Beschreibung überführt, welche den Verlauf der Gefäße, die Lage von Verzweigungen sowie deren Durchmesservariationen beinhaltet. Durch Registrierungsverfahren können Ergebnisse aus unterschiedlichen Bildserien zusammengeführt werden, was eine räumlich korrekte kombinierte Darstellung der Portal- und Lebervenen, Arterien und Gallengänge trotz Lageveränderungen durch Atembewegungen ermöglicht. Auf Basis der Lage der Tumore zu den umgebenden Gefäßen wird ein Resektionsvorschlag erstellt. Hierbei haben sich 2 Strategien etabliert. In einer „anatomischen Sicht“ werden Versorgungsgebiete von potentiell während der Operation zu schneidenden Gefäßen approximiert und als Resektionsvorschlag zusammengefasst. Alternativ kann in einer „chirurgischen Sicht“ direkt eine Schnittführung vorgegeben werden. Für die hierbei entstehende Unterteilung der Leber in zwei oder mehrere Regionen (z.B. Resektat und verbleibender Organrest) können nun Volumenbestimmungen durchgeführt werden. Diese Maßzahlen können zur Beurteilung der Operabilität und des Operationsrisikos herangezogen werden.

Ergebnis: Die Ergebnisse einer OP-Planung können auf vielfältige Weise zur verbesserten Planung beitragen. Im Falle der onkologischen Leberchirurgie verbessert die 3D-Darstellung die Beurteilung der Lage des Tumors signifikant, unabhängig vom Ausbildungsgrad des Chirurgen. Ebenso verbessert sich die Beurteilung der räumlichen Beziehung von Gewebe zu versorgenden und drainierenden Gefäßen [4,5]. Für die Wahl einer Operationsstrategie ist dies von fundamentaler Bedeutung. Im Kontext der Leber-Lebendspende kann durch den Einsatz der computerbasierten Verfahren die Spenderselektion objektiviert und somit das Risiko für den Spender verringert werden. Die Frage, ob die mittlere Lebervene mit transplantiert wird, muss patientenindividuell entschieden werden. Computergestützte Operationsplanungssysteme können bei dieser Ent-

scheidung einen wertvollen Beitrag liefern [6,7].

Schlussfolgerung: Computergestützte Operationsplanungen haben im Bereich der Leberchirurgie den Schritt in die klinische Routine weitgehend vollzogen. Für den Transfer der Ergebnisse in den OP existiert derzeit noch kein etablierter Standard. Viel versprechende Navigations-Ansätze sowie die Ausdehnung auf weitere Organe wie Pankreas und Niere befinden sich in der Entwicklung. Zusammen werden diese Methoden dem Chirurgen jedes Detail der patientenindividuellen Anatomie offenlegen, um eine schonendere und sicherere Behandlung für den Patienten zu ermöglichen.

Literatur:

1. Meinzer HP et al. (2002) Computerized planning of liver surgery - an overview. *Computers & Graphics* 26/4: 569-576
2. Selle D et al. (2002) Analysis of vasculature for liver surgical planning. *IEEE Trans Med Imaging* 21 (11): 1344-57
3. Soler L et al. (2000) An automatic virtual patient reconstruction from CT-scans for hepatic surgical planning. *Stud Health Technol Inform* 70: 316-22
4. Herfarth C et al. (2002) The effect of virtual reality and training on liver operation planning. *Swiss Surg* 8 (2): 67-73
5. Lamade W et al. (2000) The impact of 3-dimensional reconstructions on operation planning in liver surgery. *Arch Surg* 135 (11): 1256-61
6. Neumann JO et al. (2006) Branching patterns and drainage territories of the middle hepatic vein in computer-simulated right living-donor hepatectomies. *Am J Transplant* 6 (6): 1407-15
7. Radtke A (2007) Computer-assisted operative planning in adult living donor liver transplantation: a new way to resolve the dilemma of the middle hepatic vein. *World J Surg* 31 (1): 175-85
8. Lemke AJ et al. (2006) Living donor right liver lobes: preoperative CT volumetric measurement for calculation of intraoperative weight and volume. *Radiology* 240 (3): 736-42
9. Hwang S et al. (2002) Correlation of blood-free graft weight and volumetric graft volume by an analysis of blood content in living donor liver grafts. *Transplant Proc* 34 (8): 3293-4

Die Drainagegebiete der mittleren Lebervene: Ein unterschätzter Risikofaktor der Leberlebendspende?

L. Fischer, J. O. Neumann, B. Radeleff,
J. Schmidt, H. P. Meinzer, M. W. Büchler,
P. Schemmer
Heidelberg

Einleitung: Das Verständnis der Anatomie und des Drainageverhaltens der mittleren Lebervene spielt vor dem Hintergrund der Leberlebendspende eine zunehmende Bedeutung. Mit Hilfe eines computergestützten Operationsplanungssystems haben wir

die Anatomie der mittleren Lebervene analysiert, die Größe, Position und Form ihrer Subsegmente bestimmt und die Größe des Transplantatparenchyms definiert, das nach Leberlebenspende nicht mehr durch die mittlere Lebervene drainiert werden kann.

Methode: Wir werteten die CT-Daten von 54 Patienten aus, bei denen in Vorbereitung auf eine Leberresektion routinemäßig eine CT-Untersuchung durchgeführt wurde. Die 54 digitalen CT-Daten wurden in 3D-Lebermodelle transformiert. Anhand der in der Literatur beschriebenen 3 anatomischen Hauptvariationen der mittleren Lebervene (Typ I-III) haben wir die Subsegmente der mittleren Lebervene nach dem Ort ihrer Subsegmentveneneinmündung in das linke obere Subsegment (LOS), das linke untere Subsegment (LUS), das rechte obere Subsegment (ROS) und das rechte untere Subsegment (RUS) unterteilt.

Ergebnis: Der Drainagetyp I (Aufteilung in 4 gleich starke Subsegmentvenen) konnte in 59%, der Typ II (einmündende Subsegmentvenen im gesamten Verlauf der mittleren Vene) in 23% und der Typ III (asymmetrisch starke und weit verzweigte rechte untere Subsegmentvene) gefunden werden. Die mittlere Lebervene drainiert im Median aller Patienten 32% des Lebervolumens. Dabei unterscheidet sich die Größe des Drainagegebietes der mittleren Lebervene signifikant zwischen den anatomischen Hauptvariationen (Typ I: 32%, Typ II: 25%, Typ III: 39%). Bei der Leberlebenspende wird im Erwachsenenalter in der Regel die rechte Leberhälfte (Couinaud-Segmente 5, 6, 7,8) transplantiert. Im Rahmen einer Leberlebenspende sind die Couinaud-Segmente 5 und 8 besonders der Gefahr einer insuffizienten venösen Drainage und damit dem potentiellen Risiko eines Gewebsunterganges ausgesetzt. Um die Größe dieser Drainagegebiete zu definieren, haben wir die Überschneidungsareale der rechtsseitigen venösen Subsegmente ROS, RUS und der Couinaud-Segmente 5 und 8 bestimmt. Unsere Ergebnisse zeigen, dass im Median aller Patienten das Risiko einer mangelnden venösen Drainage für bis zu 30% des Gesamttransplantatvolumens besteht. Auch hier gibt es signifikante Unterschiede in Abhängigkeit vom anatomischen Hauptvariationstyp der mittleren Lebervene (Typ I: 30%, Typ II: 22%, Typ III: 35%).

Schlussfolgerung: Unsere Analyse zeigt, dass sich die Größe der Drainagegebiete der mittleren Lebervene signifikant von Patient zu Patient unterscheidet. Eine Ana-

lyse des Drainageverhaltens der mittleren Lebervene, vor allem der rechten Subsegmente kann vor dem Hintergrund der Leberlebenspende wertvolle Informationen für die Operationsplanung geben.

Virologische Diagnostik im Spenderprozess – Organakzeptanz bei erweiterten Spenderkriterien

W. Lauchart, Stuttgart

Beim Schutz der Organempfänger vor übertragbaren Erkrankungen durch Spenderorgane spielt die virologische Diagnostik eine große Rolle. Obligat müssen zur Meldung eines potenziellen Organspenders an die Vermittlungsstelle Eurotransplant Ergebnisse der serologischen Screening-Untersuchungen für HIV, Hepatitis B Virus (HBV) und Hepatitis C Virus (HCV) sowie das Cytomegalovirus (CMV) vorliegen. Zur Anwendung kommen Immunoassays mit hoher Sensitivität und Spezifität. Bei unklaren Screening-Ergebnissen und bei Spendern mit einem erhöhten Risiko von HIV- und/oder Hepatitis-Infektionen werden weiterführende Bestätigungsteste bzw. PCR-Untersuchungen durchgeführt. Organe von Spendern mit „Extended Donor Kriterien“ (Virushepatitis (jeweils alternativ HBsAg+, anti-HBc+ oder anti-HCV+), Sepsis mit positiver Blutkultur, Meningitis, maligner Tumor in der Anamnese, Drogenabhängigkeit) oder sich aus der Grunderkrankung ergebenden Komplikationen sind schwer vermittelbar und erfordern ein besonderes modifiziertes oder ein beschleunigtes Vermittlungsverfahren. Voraussetzung für die Vermittlung dieser Organe ist die Angabe von Akzeptanzkriterien seitens der Transplantationszentren (Zentrumsprofil) gegenüber der Vermittlungsstelle ET und eine spezielle Aufklärung bei der Aufnahme eines Patienten auf die Warteliste über seine persönlichen Akzeptanzkriterien (Patientenprofil). Bei Nachweis einer akuten Hepatitisinfektion im Organspender kann ein überlebenswichtiges Organ (Herz, Lunge, Leber) in Abwägung der Dringlichkeit der Transplantation und der Möglichkeit einer antiviralen Therapie für einen individuellen Patienten akzeptiert werden. Nach abgelaufenen Hepatitisinfektionen werden Organe von Spendern für Empfänger akzeptiert, die entweder gegen HBV geimpft sind oder bereits eine HBV- oder HCV-Infektion durchgemacht haben.

Immunsuppression

Konversion auf eine MMF-Erhaltungstherapie bei CNI-induzierter Nephropathie nach Lebertransplantation - initiale und persistierende Effekte auf die Nierenfunktion

*A. Kornberg, B. Küpper, K. Thrum,
E. Bärthel, J. Wilberg, U. Settmacher
Jena*

Einleitung: Bei Calcineurin-Inhibitor (CNI)-assoziiierter Nephropathie nach Lebertransplantation (LTX) hat sich der Wechsel auf eine Mycophenolat Mofetil (MMF)-basierte Immunsuppression als sinnvoll erwiesen, um die Nierenfunktion kurzfristig zu verbessern. Über die langfristige Persistenz dieses primären Effektes ist allerdings nur wenig bekannt. Ziel dieser prospektiven Studie war es initiale und langfristige Wirkungen dieser Immunmodulation auf die Nierenfunktion sowie potentiell beeinflussende Parameter zu analysieren.

Methode: Insgesamt wurden 43 Patienten nach LTX mit einer CNI-assoziierten Nephropathie (Serum-Kreatinin > 120 µmol/L) in diese Studie eingeschlossen. Nach Immunaugmentation mittels MMF (Cell Cept®, Roche) bis zu einer Maximaldosis von 2000 mg/Tag erfolgte die schrittweise Reduktion des CNI bis in den Zielbereich (CsA: 50ng/ml; Tac 5ng/ml). Die initialen (12 Monate post-Konversion) und langfristigen (36-48 Monate post-Konversion) Effekte auf die Nierenfunktion wurden durch regelmäßige Serum Krea/Harnstoff-Bestimmungen analysiert. Darüber hinaus wurde der Einfluss auf das kardiovaskuläre Risikoprofil (RR, Harnstoff-Werte, Cholesterin) bestimmt. Der Einfluss multipler klinischer Faktoren auf die Entwicklung der Nephropathie wurde mittels multivariater Cox-Regressionsanalyse evaluiert.

Ergebnis: Das mittlere Follow-up nach LTX beträgt aktuelle 92,9 Monate (Range: 39-132 Monate). Die MMF-Therapie wurde 8-98 Monate post-LTX initiiert. Die Rejektionsrate nach erfolgter Immunmodulation beträgt 0%. 12 Monate nach Konversion zeigte sich eine signifikante Reduktion der Nierenretentionswerte (Krea: 197 mmol/L versus 155 mmol/L; HST: 16,0 mmol/l versus 10,6 mmol/L; p = 0,001).

Bei 33 Patienten (76%) kam es zu einer Verbesserung der Nierenfunktion, während sie bei 10 Patienten unverändert (n=7) blieb oder sich sogar verschlechterte (n=3). Bei 32 Patienten demonstrierte sich 36-48 Monate nach Umstellung die Nierenfunktion weiterhin verbessert (74%). Bei 11 Patienten (25%) wurde der CNI komplett ausgeschlichen und durch Sirolimus ersetzt, bei 6 Patienten (13%) wurde dennoch eine Dialysetherapie notwendig. Nur der Grad der Niereninsuffizienz (schwer versus mild) zum Zeitpunkt der Immunkonversion ließ sich in der multivariaten Analyse als unabhängiger prädiktiver Faktor für die Entwicklung einer progressiven Nephropathie identifizieren (p=0,007).

Wechsel auf eine Sirolimus-basierte Immunsuppression bei CNI-assoziiierter Toxizität nach Lebertransplantation

*K. Thrum, B. Küpper, E. Bärthel, A. Koch,
O. Habrecht, J. Wilberg, U. Settmacher,
A. Kornberg
Jena*

Einleitung: Die jahrelange Einnahme von Calcineurin-Inhibitoren (CNI) kann zu typischen Nebenwirkungen führen, wie z.B. Nephropathie, Neuropathie und Tumorentstehung. Sirolimus (SRL, Rapamune®) ist ein potentes Immunsuppressivum ohne Nierentoxizität. Darüber hinaus besitzt es in vitro antiproliferative Effekte. Ziel dieser Studie war es die Verträglichkeit und Effektivität eines Wechsels auf eine SRL-basierte Immunsuppression bei lebertransplantierten Patienten mit CNI-assoziiierter Toxizität zu analysieren.

Methode: Bisher wurden insgesamt 34 Patienten im Mittel 19,4 Monate nach Lebertransplantation (Range: 0-112 Monate) in die Studie eingeschlossen. 7 Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der Umstellung unter Cyclosporin A, 27 Patienten unter Tacrolimus. Indikationen zum Wechsel auf SRL waren Nephropathie (n=14), maligne Grunderkrankung bzw. de-novo-Karzinom (v.a. HCC, n=16), andere Ursachen (Neuropathie, Augmentation bei Rejektion), bzw. eine Kombination aus mehreren.

Die initiale SRL-Dosis betrug 2 mg/Tag. Nach Erreichen des angestrebten Talspiegels (8-10ng/ml) wurde der CNI langsam ausgeschlichen. Bei Verschlechterung der Transplantatfunktion erfolgte eine Transplantatbiopsie, um zwischen SRL-Toxizität und Rejektion zu unterscheiden. Bei morphologisch verifizierter Abstoßung wurde mittels Prednisolon-Stoßdosisapplikation oder Einschleichen eines CNI therapiert. Der Einfluss der Immunmodulation auf Nierenfunktion wurde mittels kontinuierlicher Bestimmung der Serum-Kreatinin-/Harnstoffwerte analysiert.

Ergebnis: Es demonstrierte sich insgesamt eine gute Verträglichkeit von SRL. Dabei war nach einer Reduktionsphase die Monotherapie mit Rapamune bei 12 Patienten (35%) möglich. Bei 8 Patienten (23,5%) wurde Tacrolimus niedrig dosiert weiterhin appliziert. Je nach Grunderkrankung und Erfordernis war auch die fortgesetzte Gabe von Mycophenolmofetil und Prednisolon indiziert. Die Rejektionsrate nach Umstellung der Medikation lag bei 5,8% (n=2), 23 Patienten (67,6%) entwickelten eine behandlungsbedürftige Fettstoffwechselstörung. Wundheilungsstörungen traten nach Transplantation nicht verstärkt auf. In den meisten Fällen erfolgte die Umstellung auf Rapamune erst 6 Wochen post transplantationem. Auch im weiteren Behandlungsverlauf wurde von den Patienten nicht über Wundheilungsstörungen berichtet. Innerhalb von 6 Monaten nach Konversion sank das Serumkreatinin signifikant von 211,6 µmol/L auf 157,2 µmol/L (p=0,01). Eine Verbesserung der neurologischen Symptomatik trat bei allen betroffenen Patienten (n=5) auf. Eine vollständige Regredienz wurde in 2 Fällen erreicht. Bei 14 von 19 Patienten (73%) mit einem HCC als Grunderkrankung kam es nach prophylaktischer Konversion bisher zu keinem HCC-Rezidiv. Bei keinem Patienten war bisher ein Re-Switch auf einen CNI notwendig.

Schlussfolgerung: Der Wechsel auf eine SRL-basierte Immunsuppression bei CNI-assoziiierter Nephropathie und Neuropathie nach Lebertransplantation hat sich kurzfristig als effektiv und sicher erwiesen. Über die potentiellen antiproliferativen Effekte lässt sich momentan nur spekulieren. Allerdings ist mit einer sehr hohen Rate an Fettstoffwechselstörungen zu rechnen.

Rapamycin supprimiert Schlüsselgene der Leber- regeneration

*D. Palmes, A. Zibert, T. Budny, R. Bahde,
L. Kebschul, S. Stöppler, H. Schmidt,
H.-U. Spiegel
Münster*

Einleitung: Die antineoplastischen Eigenschaften von Rapamycin haben neue therapeutische Möglichkeiten zur Rezidivprophylaxe des hepatozellulären Karzinoms nach Lebertransplantation ermöglicht. Allerdings können diese spezifischen Effekte auch die Leberregeneration beeinträchtigen, was angesichts der zunehmenden Verwendung von größenreduzierten Lebertransplantaten in der Klinik an Bedeutung gewinnt. In dieser Studie wurden deshalb die temporalen Effekte von Rapamycin auf die Genexpression und Proteinexpression in der sich regenerierenden Leber untersucht.

Methode: Bei 84 Lewis-Ratten wurde die Leberregeneration durch eine 2/3-Leberresektion induziert und nach oraler Applikation von Rapamycin bzw. eines Vehikels die Expression von 22 Genen bezüglich Entzündung, Zellproliferation, extrazelluläre Matrixproduktion, Adhäsion und Angiogenese mittels RT-PCR zu frühen (24h und 48h) sowie späten Zeitpunkten (14 Tage) bestimmt. Darüber hinaus wurde die Leberregeneration durch Intravitalmikroskopie (Hepatozyten, Sternzellen, Sinusoide) und Immunhistochemie (Ki-67, VEGF) untersucht.

Ergebnis: Während durch Rapamycin die Hepatozyten- (Hepatozyten/Azinus Tag 4; Rapamycin: 2148,7±28,2 vs. Vehikel: 2679,9±33,6, p<0.05), Endothelzell und Sternzellproliferation zwischen dem 2. und 4. Tag signifikant beeinträchtigt und wichtige Zytokine und Wachstumsfaktoren (TNF, HGF, PDGF, PDGFR, IGF) herunterreguliert wurden, konnten diese Effekte nach 14 Tagen nicht mehr beobachtet werden. Darüber hinaus wurde die Angiogenese temporär durch Rapamycin beeinträchtigt mit signifikant reduzierter Sinusoiddichte (Sinusoide/Azinus Tag 3; Rapamycin: 575,6±15,9 vs. Vehikel: 740,7±23,6, p<0.05) und mRNA-Spiegeln von VEGF, VEGFR1, VEGFR2 und Angiotensin-1. Die Aktivierung von Sternzellen, gezeigt an der reduzierten SMA-Proteinexpression und ICAM-1 mRNA-Spiegeln, wurde ebenfalls temporär durch Rapamycin verzögert.

Gastrointestinale Störungen bei transplantierten Patienten – Haben Immunsuppressiva einen direkten Einfluss auf die intestinale Transport- und Barrierefunktion?

*M. Malinowski, P. Martus, P. Neuhaus, M. Stockmann
Berlin*

Einleitung: Gastrointestinale Störungen sind bei transplantierten Patienten oft anzutreffen. Der Einfluss der aktuell verwendeten Immunsuppressiva (ISD) auf die intestinale Barriere- und Transportfunktion ist weitgehend unbekannt. Ziel unserer Studie war den Einfluss von Cyclosporin A (CYA), Tacrolimus (TAC), MMF, MPA/Myfortic (MYF), Sirolimus (SIR), Everolimus (EVE) und FTY720 (FTY) auf Glukoseresorption (D-GLU), Dünndarm Chlorid-Sekretion (D-CHL) und Dünndarmbarrierefunktion (D-BAR) zu charakterisieren.

Methode: Kurz- (KZE) und Langzeitexpositionsexperimente (LZE) wurden durchgeführt. In KZE wurde Jejunum von Wistar-Ratten in modifizierte Ussing-Kammern eingebaut und für 1 Stunde mit niedrigen (Serumspiegelniveau) oder hohen (toxisches Niveau) Dosen von ISD inkubiert. In LZE wurden die Ratten für 14 Tage mit niedrigen oder hohen (aber nicht toxischen) ISD-Dosen gefüttert. Transepithelialer Widerstand, 3H-Lactulose-Flux (D-BAR) und Kurzschlussstrom (ISC) wurden gemessen. D-CHL wurde durch den basalen, Bumetanid-hemmbar und Theophyllin+PGE2-aktivierenden Isc gemessen. D-GLU wurde durch 3OMG-Kinetik und Isc-Abfall nach Phloridzin bestimmt.

Ergebnis: In KZE haben niedrige Dosen von ISD keinen signifikanten Einfluss. D-GLU wurde durch hohe Dosen CYA in KZE erhöht und durch TAC, EVE und MYF in LZE erniedrigt. D-CHL wurde durch MMF, MYF, SIR und EVE in KZE sowie EVE und MYF in LZE reduziert. D-BAR wurde durch EVE und SIR in KZE und durch MMF in LZE beeinträchtigt.

Schlussfolgerung: Keine der untersuchten ISD in Serumspiegel-Konzentration beeinflusst direkt die Transport- oder Barrierefunktion des Dünndarms. In LZE beeinflussen Immunsuppressiva die Dünndarm-Pathophysiologie zwar nur gering, einige Veränderungen könnten aber von klinischer Relevanz sein: TAC, EVE und MYF beeinträchtigen die Glukose-Resorption

und könnten daher eine Malabsorption verursachen. MMF, aber nicht MYF beeinträchtigt die Barrierefunktion, was zu einer Leckflux-Diarrhoe führen könnte.

Untersuchung des Effekts von Mycophenolat Mofetil auf myeloide dendritische Zellen

*V. Cicinnati, C. G. Klein, A. Frilling, G. Gerken, C. E. Broelsch, S. Beckebaum
Essen*

Hintergrund: Die dendritischen Zellen (DC) haben als professionelle Antigen präsentierende Zellen eine wichtige Funktion bei der Induktion und Regulierung der adaptiven Immunantwort. In Abhängigkeit von ihrem Maturationsgrad sind DC in der Lage, sowohl Immunität als auch Toleranz zu erzeugen. Die Modulation des Maturationsgrades der DC erscheint daher ein sinnvoller Ansatz, um eine Transplant Toleranz zu induzieren. Ziel dieser Studie war die Untersuchung des Effekts von Mycophenolsäure (MPA), der aktiven Wirksubstanz des Proliferationshemmers Mycophenolat Mofetil, auf die phänotypischen und migratorischen Eigenschaften von frisch aus dem Blut isolierten humanen myeloiden CD11c⁺ DC (MDC) in vitro.

Material und Methoden: Es wurden periphere mononukleäre Zellen (PBMC) aus dem Blut gesunder Spender mittels Dichtegradientenzentrifugation isoliert und ohne Zusatz von Wachstumsfaktoren für 48 Stunden mit MPA in verschiedenen Konzentrationen (0,1 µM – 100 µM) behandelt. Nach dem Ernten der Zellen wurde die Expression von kostimulatorischen Molekülen und Adhäsionsfaktoren sowie der für die Zellmigration wichtigen Chemokinrezeptoren (CCR) auf MDC mittels 4-Farben-Durchflusszytometrie analysiert.

Ergebnis: Die MPA-Exposition bewirkte eine Herunterregulierung der kostimulatorischen Moleküle CD40, CD80 und CD86, der Adhäsionsmoleküle CD54 und CD62L sowie des Maturationsmarkers CD83 auf den MDC. Zusätzlich erfolgte eine Herunterregulierung des für das Lymphknoten-Homing wichtigen Rezeptors CCR7. Im Gegensatz dazu konnte nach MPA-Exposition eine Hochregulierung des Rezeptors CCR1 für inflammatorische Chemokine auf den MDC beobachtet werden.

Schlussfolgerung: Zusammenfassend lässt sich sagen, dass MPA den Reifungs-

prozess von MDC verhindert und somit die effektive Induktion der adaptiven Immunantwort gestört wird. Zusätzlich scheint MPA einen Einfluss auf die migratorischen Eigenschaften der MDC zu be-

sitzen, indem es sowohl das Auswandern aus den peripheren Organen (Transplantat) als auch die Migration in ortsansässige Lymphknoten verhindert.

H.G. Kress, E. Knolle (Hrsg.)

Update Schmerztherapie
**Schmerzmanagement zwischen erwünschter
und unerwünschter Wirkung**

J. Maly, E. Deusch: Biofeedback

A. Michalek-Sauberer, S.A. Kozek-Langenecker: Elektroakupunktur am Ohr – P-Stim®: Eine nicht-medikamentöse Therapiealternative

M. J. Oehmke, S. Sator-Katzenschlager: Intrathekale Medikamentenapplikation

E. Knolle, J. Benrath: Durchleuchtungsgezielte Schmerzblockaden an der lumbalen Wirbelsäule

T. Wieser, R. Essmeister: Kopf- und Gesichtsschmerzen

M. Greher, U. Eichenberger: Ultraschall-gezielte Schmerzblockaden

K. Brune: Pharmacokinetic differences of cyclooxygenase inhibitors: Can they predict unwanted drug effects?

S. Böhm: Anticholinerge Nebenwirkungen durch Schmerztherapeutika

B. Lemmer: Optimales Timing für effiziente Analgesie

C. Stepan: Schlafstörungen und Schmerzen

E. Buchser: Risks associated with chronic spinal drug delivery

J. Benrath: Toleranz in der Opioidtherapie – Theorien und klinische Lösungsansätze

H. Schmidhammer: Neue Opioide ohne ZNS-vermittelte Nebenwirkungen

A. Neumayr: Mozarts Tod durch Krankheit und Behandlung

R. Likar: Topische Applikation von Lidocain Gel oder Morphin Gel

K. Streitberger: Akupunktur – Risiken einer sanften Medizin?

120 Seiten, ISBN 978-3-89967-373-9, Preis: 15,- Euro

PABST SCIENCE PUBLISHERS

Eichengrund 28, 49525 Lengerich, Tel. ++ 49 (0) 5484-308, Fax ++ 49 (0) 5484-550,
E-Mail: pabst.publishers@t-online.de – Internet: www.pabst-publishers.de

Maligne Tumoren der Leber

Die Tumorstroma-assoziierten Fibroblasten als potentieller therapeutischer Angriffspunkt in der Behandlung von colorektalen Lebermetastasen

L. Müller, L. von Seggern, F. A. Goumas,
C. Wilms, F. Braun, X. Rogiers,
D. C. Broering
Kiel, Gent

Einleitung: Neben der Neoangiogenese werden zunehmend die Inflammation sowie die Stromagenese (Desmoplasie) als bedeutsame Host-Mechanismen für die Progression von Karzinomen diskutiert. Tumorstroma-assoziierte Fibroblasten (TAFs) sind der entscheidende zelluläre Bestandteil des desmoplastischen Tumorstromas.

Methode: Das Ziel unserer Arbeit ist die funktionelle Charakterisierung der TAFs aus humanen colorektalen Lebermetastasen (CLM) im Hinblick auf die Entwicklung neuer medikamentöser Behandlungsstrategien.

Ergebnis: Wir konnten zeigen, dass TAFs in CLM in einen entzündlichen Prozess eingebettet sind. Die Expression der proinvasiven und pro-angiogenetischen Cytokine IL-6, IL-8 und MCP-1 durch primäre, humane TAFs wird durch TNF massiv induziert. Durch eine spezifische Blockade der NF- κ B-Aktivierung durch Parthenolide oder Helenalin wird dieser Effekt dosisabhängig geblockt. Die Proliferation von TAFs wird durch den Tyrosin-Kinase-Inhibitor Imatinib (STI-571), einem Antagonisten der durch PDGF-Rezeptoren vermittelten Signaltransduktion, signifikant gehemmt (LIT).

Schlussfolgerung: Hieraus ergeben sich zwei anti-inflammatorische bzw. anti-stromagenetische Behandlungsstrategien, die einzeln oder in Kombination einen potentiellen Therapieansatz bei CLM darstellen und in vivo evaluiert werden sollten.

Literatur:

1. Goumas FA, Himpel S, Brillhoff S, Rogiers X, Broering DC (2006) Imatinib mesylate inhibits proliferation and modulates cytokine expression of human cancer-associated stromal fibroblasts from colorectal metastases. *Cancer Lett 1* [Epub ahead of print]

Nutzen und Risiko der Autotransfusion von intraoperativ aufbereiteten Erythrozytenkonzentraten (AEK) im Falle der Lebertransplantation (LTx) wegen Hepatozellulärem Karzinom (HCC)

D. Foltys, Mainz

Einleitung: Die AEK während einer LTx bei tumorfreiem Empfänger ist standardisiert und risikoarm (1). Lebertransplantat-Empfänger mit HCC könnten durch die AEK allerdings einem erhöhten Rezidiv-Risiko durch die Retransfusion von Tumorzellen ausgesetzt werden.

Methode: Zwischen 1998 und 2007 haben wir 97 Patienten mit histologisch gesichertem Hepatozellulärem Karzinom in der Explantatleber analysiert. Patienten ohne Nachweis von vitalem Tumorgewebe im Explantat wurden trotz präoperativem HCC-Befund ausgeschlossen.

Ergebnis: Die Rezidivfreiheit unserer Patienten nach einem Jahr lag bei 85%, die nach fünf Jahren (5-J-frei) bei 74%. 15 der 97 Patienten erlitten ein Rezidiv. Die Rezidivgefahr war signifikant erniedrigt, wenn die Mailand-Kriterien ($p=0.0333$) erfüllt wurden, ein hochdifferenziertes HCC ($p=0,001$) oder ein niedriges T-Stadium ($p=0,0013$) vorlagen. 34 Patienten (35%) erhielten eine AEK, 63 erhielten kein Eigenblut. Die mittlere Menge der AEK lag bei 1161 ml (250 ml – 5300 ml). Die mittlere Zahl an fremden Erythrozytenkonzentraten (EK) lag bei 7 (0-22) in der AEK-Gruppe und bei 8 (1-30) in der AEK-freien Gruppe. Die Mailand-Kriterien im Explantat erfüllten 22 der 34 AEK Patienten (65%) und 37 der 63 AEK-freien Patienten (59%).

Schlussfolgerung: Die AEK scheint bei der Lebertransplantation auch im Falle eines HCC keine Erhöhung der Rezidivrate zu verursachen. Wir stimmen Publikationen, die eine Langzeit-Sicherheit der AEK bei Leberresektion (2) und LTx (3) wegen HCC zeigen, zu und kommen zu dem Schluss, dass die AEK während LTx auch im Falle eines HCC ohne signifikant erhöhtes Rezidivrisiko eingesetzt werden kann.

Literatur:

1. Houvenaegel et al. (1989)
2. Hirano et al. (2005)
3. Muscari et al. (2005)

Optimierung der Suizid- gentherapie des Hepatozellulären Karzinoms für das bridging zur Lebertransplantation und für die adjuvante Situation post-LTx

U. Lauer, M.-L. Lemken, W. A. Wybraniec,
M. Gregor, M. Bitzer
Tübingen

Einleitung: Viele Patienten mit Leberzirrhose und terminaler Leberinsuffizienz können durch eine Lebertransplantation (LTx) geheilt werden. Problematisch ist jedoch, dass zum Zeitpunkt der Indikationsstellung zur LTx (i) bereits häufig Hepatomknoten vorliegen, die oft nur teilweise in der Bildgebung darstellbar sind, und dass nach erfolgreicher LTx (ii) häufig Rezidive eines bereits präoperativ bestehenden Hepatozellulären Karzinomes (HCC) auftreten. Entsprechend bedarf es neuartiger Ansätze, mit denen HCC-Manifestationen sowohl im Zeitraum des bridgings zur LTx als auch adjuvant nach erfolgter LTx suffizient bekämpft werden können. Einen solchen viel versprechenden Ansatz stellt die Suizidgentherapie dar, die bei optimierter Transduktionseffizienz in der Lage ist, eine hohe Ablationsrate sowohl makroskopisch sichtbarer als auch mikroskopisch kleiner HCC-Herde zu erzielen. Für diese Zielsetzung wurde in der vorliegenden Arbeit ein neuartiger Ansatz zur Optimierung der Infektionseffizienz von Hepatomzellen verfolgt.

Methode: Auf der Basis des bifunktionalen Suizidgenes SuperCD (Fusion der Gene Cytosindeaminase (YCD) und Uracilphosphoribosyltransferase (YUPRT)) (Graepler et al., 2005) wurden in einem weiteren Schritt zur Optimierung des SuperCD-vermittelten bystander-Effekts N- und C-terminale Fusionen von SuperCD mit dem Herpes Simplex Virus Typ-1 (HSV-1) Tegument-Protein VP22 hergestellt, welches die einzigartige Fähigkeit zum interzellulären Proteintransport in primär nicht infizierte Hepatomzellen verleiht (Wybraniec et al., 2001; Kretz et al., 2003, Lemken et al., 2007). Diese neuartigen Fusionsgene SuperCD-VP22 und VP22-SuperCD wurden in einem nächsten Schritt in den Kontext rekombinanter adenoviraler Vektoren eingebracht. Die Expression der Fusions-

gene wurde im Western Blot bestimmt. Zur Ermittlung der Effizienz der Suizidgen-vermittelten Toxifikation wurden unter Inkubation mit der prodrug 5-Fluorcytosin (5-FC) SRB-Viabilitätsassays mit Hepatomzellen durchgeführt. Zusätzlich wurde eine Immunfluoreszenz Analyse durchgeführt, bei der adenoviral infizierte Zellen koplattiert wurden mit infektiionsnaiven Zellen, um den VP22-vermittelten interzellulären Proteintransport sichtbar zu machen.

Ergebnis: Im SRB-Viabilitätsassay findet sich ein hoch signifikant verstärkter Suizidgeneffekt bei Einsatz der adenoviralen (Ad) Vektoren Ad-SuperCD-VP22 und Ad-VP22-SuperCD verglichen mit Ad-SuperCD (parentaler Vektor ohne Fusion des SuperCD-Genes mit VP22). Die IC₅₀ bestimmt sich für Ad-SuperCD-VP22 bzw. Ad-VP22-SuperCD mit 0,006 mM 5-FC bzw. 0,01 mM 5-FC bei einer multiplicity of infection (moi) von 50 und liegt damit um das 31fache bzw. das 48fache geringer als für Ad-SuperCD (0,31 mM). In einem Nachfolgeexperiment konnte gezeigt werden, dass eine Reduktion der Vektordosis auf moi 10 ausreicht, um bei einer 5-FC Konzentration von 0,3 mM eine nahezu komplette Abtötung des adressierten Hepatom-Zellrasens zu erzielen. Weiterhin konnte die Optimierung des Suizidgeneffektes auch bei Mischung adenoviral infizierter Zellen (Ad-SuperCD-VP22, Ad-VP22-SuperCD) mit infektiionsnaiven HeLa-Zellen gezeigt werden, was eine wichtige Simulation der klinisch zu erwartenden Situation darstellt. Im gleichen Setting gelang mittels Immunfluoreszenz-Analyse der direkte Nachweis des VP22-vermittelten interzellulären Transportes von Suizidgenproteinen.

Schlussfolgerung: Durch Fusionierung des SuperCD-Suizidgenes mit dem VP22-Motiv ist es gelungen, eine weitere Optimierung der Suizidgentherapie des Hepatozellulären Karzinoms zu bewerkstelligen. Damit eröffnen sich im Kontext des Hepatozellulären Karzinomes neuartige Perspektiven für das bridging zur Lebertransplantation und für die adjuvante Situation post-LTx.

Literatur:

1. Graepler F, Lemken ML, Wybraniec WA, Schmidt U, Smirnow I, Groß CD, Spiegel M, Schenk A, Graf H, Lauer UA, Vonthein R, Gregor M, Armeanu S, Bitzer M, Lauer UM (2005) Bifunctional chimeric SuperCD suicide gene (YCD::YUPRT fusion) is highly effective in a rat hepatoma model. *World J Gastroenterol* 11: 6910-6919
2. Wybraniec WA, Gross CD, Phelan A, O'Hare P, Spiegel M, Graepler F, Bitzer M, Stahler P, Gregor M, Lauer UM (2001) Enhanced suicide gene effect by adeno-

- viral transduction of a VP22-cytosine deaminase (CD) fusion gene. *Gene Therapy* 8 (21): 1654-64
3. Kretz A, Wybraniec WA, Hermening S, Lauer UM, Isenmann S (2003) HSV-1 VP22 augments adenoviral gene transfer to CNS neurons in the retina and striatum in vivo. *Mol Therapy* 7: 659-69
4. Lemken ML, Wolf C, Wybraniec WA, Schmidt U, Smirnow I, Bühring HJ, Mack AF, Lauer UM, Bitzer M (2007) Direct evidence for the presence of inter-cellular trafficking of VP22 fused to GFP. *Mol Therapy* 15: 310-9

Vergleich von Elektrolyse und Radiofrequenzablation hinsichtlich des Ausmaßes der hepatischen Nekrose in der Behandlung eines artifiziellen Lebermetastasenmodells im Schwein

S. Hinz, J.-H. Egberts, U. Pauser,
C. Schafmayer, F. Fändrich, J. Tepel
Kiel

Einleitung: Die vollständige Resektion stellt die einzige gesicherte potentiell kurative Option zur Behandlung von Lebermetastasen dar. Allerdings liegt bei einem großen Teil der Patienten mit Lebermetastasen schon bei Diagnosestellung keine chirurgische Resektabilität der Metastasen vor. Daher wurden in den letzten Jahren verschiedene lokale destruktive Therapieverfahren etabliert, um im Falle einer nicht resektablen Tumormanifestation eine lokale Nekrose der Lebermetastasen zu erreichen. Die Elektrolyse (Electro-Chemical-Unit, ECU) ist ein neues Verfahren, in dem durch Einsatz von lokal eingebrachten Platinelektroden eine gerichtete Wanderung von Ionen zwischen Anode und Kathode durch Anlage eines Gleichstrom-induzierten Spannungsfeldes erreicht wird. Dadurch wird eine Veränderung des intrazellulären pH-Wertes in dem umgebenden Gewebe verursacht mit nachfolgender Nekrose. Die Sicherheit beim Einsatz der Elektrolyse im Leberparenchym wurde bereits in einigen Studien im Schweinmodell und auch schon in einer kleineren Studie bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen untersucht. In diesem Tierversuch sollte in einem artifiziellen Tumormodell im Schwein überprüft werden, ob die Elektrolyse ein zur Radiofrequenzablation (RFA) gleichwertiges Verfahren darstellt.

Methode: In insgesamt 8 Schweinen wurden unter sonografischer Kontrolle 37 sog. Tumor mimics durch Injektion eines Glycerol/Agarose-Gels appliziert. Zwei

Schweine dienten als Kontrollgruppe ohne Applikation dieser Tumor mimics. Die einzelnen Läsionen wurden sonografisch vermessen und das Volumen vor Behandlung ermittelt. Die Läsionen stellten sich sonografisch als hyperechogene Raumforderungen dar. Diese wurden in 2 Behandlungsgruppen entweder mit RFA (Cool Tip, Fa. Valleylab) oder mit ECU (ECU Generator, Fa. Söring) behandelt, wobei die Behandlung in einem offenen Therapieverfahren nach Laparotomie der Tiere erfolgte. Die korrekte Lage der Elektroden wurde sonografisch kontrolliert. 48h nach Beendigung der Behandlung wurden die Tiere relaparotomiert und die Leber zur makroskopischen und histologischen Untersuchung entnommen.

Ergebnis: Von den insgesamt 37 Läsionen wurden 18 mittels RFA behandelt. Dabei lagen 8/18 Läsionen zentral in der Leber. In allen Fällen konnten die Läsionen makroskopisch und histologisch komplett destruiert werden. Die ECU wurde bei 19 Läsionen angewendet. Die histologische Aufarbeitung zeigte auch hier, dass in allen Fällen eine komplette Nekrose im Bereich der Tumor mimics vorhanden war. Histologisch waren nach RFA und ECU unterschiedliche Nekrosentypen vorherrschend. Nach RFA zeigte sich ein Verschwinden der Zellmembranen, wobei die Zellkerne noch intakt waren. Das Zytoplasma zeigte eine eosinophile Färbung. Im Gegensatz dazu waren nach Anwendung der ECU die Zellmembranen komplett verschwunden und die Zellkerne destruiert. Beide Nekroseformen stellten eine irreversible Zellschädigung mit anschließender kompletter Nekrose dar. Zusätzlich fand sich nach der ECU ein ausgedehntes lymphozytäres Infiltrat um die Nekrose in 13/19 behandelten Fällen. Diese entzündliche Reaktion war nicht nach der RFA vorhanden.

Schlussfolgerung: Zusammengefasst handelt es sich bei der Elektrolyse um einen im Tierexperiment in der Wirksamkeit der RFA vergleichbaren lokalen Therapieansatz zur Zerstörung einer definierten Raumforderung in der Leber. Damit ist die ECU eine Alternative zur Behandlung von nicht resektablen Lebermetastasen.

Epigenetische Modulation als innovative „Bridging“-Therapie vor Lebertransplantation für Patienten mit Hepatozellulärem Karzinom

M. Bitzer, S. Venturelli, S. Armeanu,
T. Weiss, M. Gregor, U. M. Lauer
Tübingen

Einleitung: Patienten mit neu diagnostiziertem Hepatozellulärem Karzinom (HCC) und Indikation zu einer Lebertransplantation entwickeln häufig einen Progress der Tumorerkrankung, einhergehend mit einer Verschlechterung der Ausgangsbedingungen für und des Verlaufs nach der geplanten Transplantation. Vor diesem Hintergrund besteht ein ausgeprägtes Bedürfnis, gut verträgliche Therapieoptionen zu entwickeln, die den Progress der Tumorerkrankung aufhalten bzw. eine Antitumorwirkung entwickeln können. Epigenetische Therapeutika stellen eine innovative Substanzgruppe in der klinischen Onkologie dar. Histondeacetylase-Inhibitoren (HDAC-I) und DNA-demethylierende Substanzen (DA) werden bereits in klinischen Studien, nicht jedoch im Kontext des HCC bzw. der Lebertransplantation untersucht. Eigene präklinische Arbeiten zeigen, dass eine HDAC-I-Monotherapie bereits Apoptosephänomene bei HCC-Zellen induzieren (Armeanu et al., J Hepatol 2005) oder eine Antitumorwirkung über das unspezifische Immunsystem hervorrufen kann (Armeanu et al. Cancer Res 2005).

Methode: Für die präklinische Evaluation einer epigenetischen Therapie beim HCC erfolgte zunächst in vitro die Charakterisierung und Behandlung humaner Hepatomzellen (HepG2, Hep3B, HuH7) sowie primärer humaner Hepatozyten (PHH) mit dem HDAC-I Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) und/oder einer demethylierenden Substanz (5-aza-2dC). Anschließend erfolgte die Analyse auf Zellschädigung (ELISA auf LDH, GPT), Proliferation (SRB Test), Apoptose (FACS), Histonacetylierung (Western Blot) und Methylierungsstatus (PCR). Abschließend wurde die antiproliferative Wirkung der eingesetzten epigenetischen Therapeutika in einem HuH7 Xenograft-Mausmodell in vivo untersucht.

Ergebnis: SAHA und 5-aza-2dC wirkten jeweils antiproliferativ auf Hepatomzellen und induzierten Apoptose. Die Kombination beider Substanzen zeigte (i) eine deutlich verstärkte Wirkung auf Hepatomzel-

len, aber keine Toxizität bei PHH-Zellen (von 5 unterschiedlichen Spendern). Durch Bestimmung (i) des Methylierungsstatus von zwei Modellgenen (p16, SOCS-1) und (ii) des Acetylierungsstatus von Histonproteinen konnte eine wirkungsabschwächende wechselseitige Beeinflussung von Demethylierungs- bzw. Acetylierungsphänomenen bei der Kombinationstherapie ausgeschlossen werden. Abschließende Untersuchungen an einem HuH7 Xenograft-Hepatommodell mit Bestimmung des Tumorwachstums unter Therapie zeigten, dass die Kombination (SAHA + 5-aza-2dC) einer Gabe von Einzelsubstanzen oder Placebo in vivo überlegen war.

Schlussfolgerung: Die epigenetische Modulation von Tumorzellen stellt einen innovativen Ansatz mit einem neuartigen Wirkmechanismus zur Therapie solider Tumore, insbesondere des HCC dar. Im Kontext des „Bridgings“ zur Lebertransplantation von Patienten mit HCC sind diese neuartigen Therapieansätze von besonderer Bedeutung, da für jede getestete Substanzgruppe Substanzen zur Verfügung stehen, die bereits in anderem klinischen Kontext routinemäßig eingesetzt werden.

Literatur:

1. Pathil A, Venturelli S, Mascagni P, Weiss TS, Göttlicher M, Gregor M, Lauer UM, Bitzer M (2005) Apoptosis on hepatoma cells but not on primary hepatocytes by histone deacetylase inhibitors valproate and ITF2357. *J Hepatol* 42: 210-217
2. Armeanu S, Bitzer M, Lauer UM, Venturelli S, Pathil A, Kaiser S, Jobst J, Smirnow I, Wagner A, Steinle A, Sahli HR (2005) NK cell-mediated lysis of hepatoma cells via specific induction of NKG2D ligands by the histone deacetylase inhibitor sodium valproate. *Cancer Res* 65: 6321-6329
3. Pathil A, Armeanu S, Venturelli S, Mascagni P, Weiss TS, Gregor M, Lauer UM, Bitzer M (2006) HDAC inhibitor treatment of tumor cells with inherent TRAIL resistance not only restores sensitivity to TRAIL, but also induces TRAIL-independent apoptosis. *Hepatology* 43: 425-434
4. Venturelli S, Armeanu S, Pathil A, Chih-Jen H, Weiss TS, Vonthein R, Gregor M, Lauer UM, Bitzer M (2007) Epigenetic combination therapy as a tumor selective treatment approach for hepatocellular carcinoma. *Cancer (in press)*

Results of resection and transplantation for HCC in cirrhosis and non-cirrhosis

F. Rayya, M. Bartels, J. Harms, J. Hauss,
J. Fangmann
Leipzig

Introduction: Surgery remains the most effective treatment for hepatocellular carcinoma (HCC). Both resection and trans-

plantation are surgical treatment options depending on the size of tumours and the presence of cirrhosis.

Methods: From January 2001 to December 2006, 76 patients with HCC were treated, comprising 61 male and 15 female. Mean age was 65.3 years (35-86). 65 patients underwent liver resection including 10 patients (15.2%) with HCC in cirrhotic livers, 2 of them were treated with chemoembolisation before resection. And 11 patients were transplanted.

Results: In non cirrhotic livers with HCC, the following resections were performed: right and extended right hemihepatectomy (n=30), left hemihepatectomy (n=11), mono- and bi-segmentectomy (n=14). Resection in cirrhotic livers were performed only in Child A (n=7) and B stage (n=3). In Child A, 4 hemihepatectomies, and 3 bi-segmentectomies were carried out. HCC tumour size was 3 -10 cm. In Child B, 3 bi-segmentectomies for small tumours (2.3-3.5 cm) were performed. R0 was achieved in 57 patients (88%), R1-2 in 8 patients (12%) after partial hepatectomy. 11 patients with HCC in cirrhotic livers (9 according to MILAN CRITERIA and 2 patients with tumours exceeding these criteria) underwent total hepatectomy with liver transplantation, 5 of them were treated with chemoembolisation before transplantation. 30-day mortality rate after resection and transplantation was 7.6% and 0%, respectively. Overall 1- and 5-year survival rates after transplantation were 65%. So far there is no sign for tumour recurrence. 1- and 5-year survival after resection in non cirrhotic livers were 69% and 48%, and in cirrhotic livers 58% and 0%, respectively.

Conclusion: Liver resection for HCC in cirrhosis should be performed with caution (no long-term survival in our data). Our study confirms that transplantation shows good long-term survival. This may also be true for stages above the Milan criteria. Resection for HCC in non-cirrhotic livers remains the treatment of choice, justifying an extensive surgical approach. This achieves favourable long-term survival as demonstrated in the study presented.

Chirurgische und Interventionelle Therapie des hepatozellulären Karzinoms

*W. Zhang, S. Yedibela, W. Hohenberger, T. Meyer
Erlangen*

Einleitung: 80% der primären Lebertumoren sind hepatozelluläre Karzinome (HCC). Trotz des erweiterten Therapiepektrums bleibt die Chirurgie neben interventionellen Maßnahmen wie z.B. transarterielle Chemoembolisation (TACE) die Therapie der Wahl. HCC sind häufig mit chronischer Hepatitis B/C und Leberzirrhose vergesellschaftet, die Prognose ist im Einzelfall schwer abschätzbar. Wir berichten über unsere Erfahrungen bei der Behandlung des HCC.

Methode: Retrospektiv wurden die Daten aller Patienten (N=224) mit histologisch gesichertem HCC, die 01/95-12/04 in der Chirurgischen Klinik behandelt wurden, analysiert. Die Indikation zur Resektion wurde in der Regel bei Patienten ohne Leberzirrhose oder Child A Zirrhose nach Ausschluss von Fernmetastasen gestellt. Bei Vorliegen einer Child B/C Zirrhose wurden die Patienten nach Erfüllung der Milan Kriterien zur Transplantation gelistet. Als Überbrückungstherapie während der Wartezeit sowie als Palliativmaßnahme wurde die TACE eingesetzt.

Ergebnis: Von 224 HCC (201 Männer und 23 Frauen) hatten 80.4% der Patienten (N=180) keine oder eine Child A Zirrhose, 15.6% eine Child B Zirrhose (N=35), 4% eine Child C Zirrhose (N=9). 113 Pat. wurden operiert (50.4%), 28 Pat. davon erhielten eine orthotope Lebertransplantation (OLT). 25 Pat. wurden lediglich exploriert (multifokales Wachstum, Peritonealkarzinose, technische/funktionelle Irresektabilität). 60 Pat. wurden reseziert, bei 53 Pat. war eine R0-Resektion möglich (R1 n=3, R2 n=4). Die Tumoren der chirurgisch behandelten Pat. wiesen folgende T-Kategorien auf: pT1 n=52 (59.1%), pT2 n=27 (30.7%), pT3 n=8 (9.1%), pT4 n=1 (1.1%). Die postoperative Letalität lag bei 8.8%. Bei 79 Pat. wurde eine TACE durchgeführt, bei 30 Pat. als neoadjuvante Therapie präoperativ und bei 49 Pat. als Palliativmaßnahme. Die 1-, 2- und 5-Jahresüberlebensraten lagen nach OLT bei 88.9%, 81.1% und 49.4%, nach Resektion bei 65.4%, 51.7% und 29% und nach alleiniger TACE bei 51.7%, 12.1% und 4%. Die Lebertransplantation zeigte deutliche Überlebensvorteile im Vergleich mit der Resektion (P=0.026). Auch eine palliative

Chemoembolisation erreichte ein längeres Überleben im Vergleich zur alleinigen Observation ($P=0.020$).

Schlussfolgerung: Bei sorgfältiger Patientenselektion kann mit chirurgischen Therapiemaßnahmen (Resektion/OLT) auch ein langfristiges Überleben erzielt werden. Eine TACE kann in Einzelfällen zu einer begrenzten Lebensverlängerung bei geringem Therapierisiko führen. Frühentdeckung und multimodale Therapiekonzepte könnten zu einer weiteren Verbesserung der Prognose beitragen.

Tumorbiologische Faktoren und nicht Milan-Kriterien allein bestimmen die Langzeitprognose nach Lebertransplantation beim HCC

*A. Kornberg, B. Küpper, E. Bärthel,
K. Thrum, J. Wilberg, U. Settmacher
Jena*

Einleitung: Die Rechtfertigung zur Erweiterung der Indikationskriterien für die Lebertransplantation (LTX) beim HCC verlangt nach der Analyse verlässlicher zusätzlicher Prognosekriterien. Ziel dieser retrospektiven Studie war es den Einfluss tumorbiologischer Faktoren im Vergleich zu Parametern der Milan-Klassifikation

auf die Langzeitprognose nach LTX wegen eines HCC zu evaluieren.

Methode: Insgesamt wurden 49 Patienten nach LTX wegen eines HCC in die Studie eingeschlossen. Alle erhielten eine CNI-basierte Quadruple-Induktions-Immunsuppression. Der Explantations-Histologie entsprechend wurden alle Patienten in Milan + (innerhalb der Milan-Kriterien) und Milan – (außerhalb der Milan-Kriterien, erweitert) klassifiziert. Der Einfluss von tumorbiologischen Faktoren (AFP, Tu-Grading, mikrovaskuläre Tu-Invasion, TACE, PET) sowie Parametern der Milan-Klassifikation (Tu-Größe, Anzahl Tu-Knoten) auf das Langzeitüberleben sowie die Rezidivrate wurde mittels Kaplan Meier und Cox-Regressionsanalyse bestimmt.

Ergebnis: Das aktuelle mediane Follow-up beträgt 66 Monate (Range: 2-194 Mo). Das 1-, 3- und 5-Jahresüberleben aller Patienten beträgt 94,2%, 86,0% und 80,0%. Nur der hohe präoperative AFP-Spiegel ($p=0,02$), die mikrovaskuläre Tu-Invasion ($p=0,001$) und tendenziell das positive Onko-PET prä-LTX ($p=0,08$) hatten einen Einfluss auf das Langzeitüberleben der Patienten. Insgesamt 10 Patienten (22,2%) erlitten ein HCC-Rezidiv im Median nach 28,5 Monaten (Range: 4-52 Mo). In der multivariaten Cox-Regressionsanalyse wurden einzig das Tu-Grading ($p=0,001$) und das positive präoperative Onko-PET ($p=0,03$) als unabhängige Prädiktoren für ein HCC-Rezidiv identifiziert.



www.modernes-antiquariat.net
Bücher aus Belletristik, Mathematik, Medizin,
Musik, Psychologie, Recht, Religion, Soziologie,
Wirtschaft, Zeitgeschichte ...

Zelltransplantation

Die Differenzierung mesenchymaler Stammzellen aus peritonealem Fettgewebe der Ratte zu hepatozytären Zellen in vitro verbessert deren Integration nach Transplantation in vivo

B. Christ, M. Sgodda, I. Aurich, H. Aurich Halle/S.

Einleitung: In den meisten bisher untersuchten adulten Geweben sind mesenchymale Stammzellen zu finden, die in multiple Entwicklungslinien differenzieren können. Es sollte das hepatozytäre Differenzierungspotential mesenchymaler Stammzellen aus dem Fettgewebe der Ratte in vitro und die Fähigkeit der Zellen zur hepatischen Integration nach Transplantation in eine Rattenleber in vivo untersucht werden.

Methode: Durch Collagenasebehandlung, Dichtegradientenzentrifugation und Plastikadhärenz wurde aus dem peritonealen Fettgewebe der Ratte eine Zellfraktion angereichert, die typische Oberflächenmarker mesenchymaler Stammzellen exprimierte (rAT-MSC). Die Zellen waren zur osteogenen und adipogenen Differenzierung befähigt.

Ergebnis: Unter Kulturbedingungen, die zur hepatozytären Differenzierung führen, erlangten die Zellen die Fähigkeit zur Harnstoff- und Glycogensynthese. Weiterhin exprimierten sie die hepatozytenspezifischen Transkripte der Dipeptidylpeptidase Typ IV (CD26), des Albumin, Cytochrom P450 Typ 1A1, Cytokeratin 18 und Connexin CX32. Mit zunehmender hepatozytärer Differenzierung nahm die transgene Luciferase- oder GFP-Expression unter der Kontrolle des hepatozytenspezifischen Promotors der PCK1 zu. Unter Kontrolle des Ubiquitinpromotors war die Expression konstitutiv. Aus rAT-MSC hergestellte Hepatozyten aus Wildtypmatten, die GFP nach lentiviralem Gentransfer unter der Kontrolle des Ubiquitinpromotors exprimierten, wurden in die Lebern CD26-defizienter Ratten transplantiert. 10 Wochen nach der Transplantation waren Cluster CD26-positiver Zellen vornehmlich in periportalen Bereichen der Empfängerleber zu finden. Die gleichzeitige Expression von GFP zeigte eindeutig deren Identität

mit den in vitro zu Hepatozyten differenzierten rAT-MSC an. Wurden statt differenzierter Zellen undifferenzierte rAT-MSC verwendet, wurden nur einzelne Spenderzellen im Wirtsleberparenchym gefunden.

Schlussfolgerung: Mesenchymale Stammzellen aus Fettgewebe sind also zur Differenzierung in hepatozytäre Zellen befähigt. Die Differenzierung verbessert deren Integration in eine Empfängerleber nach Transplantation. In der klinischen Anwendung könnte dies den therapeutischen Nutzen stammzellbasierter Hepatozyten deutlich begünstigen.

Assessment of toxicity in rabbits after repeated intraportal infusions of allogeneic liver cells

S. Kafert-Kasting, A. Schneider, C. Priesner, K. Alexandrova, M. Barthold, M. Attaran, A.-L. Perrier, J. Meyburg, H. Kriegbaum, M. Ott Hannover

Introduction: Hepatocyte transplantation is considered as a new therapeutic strategy for the treatment of acute liver failure and inborn metabolic defects of the liver. We are reporting a preclinical study to reveal the toxicological profile of repeated intraportal infusion of allogeneic liver cells in a rabbit model.

Methods: Rabbit liver cells were administered once daily for 6 consecutive days at 3 different dose levels (0.25 x 10⁸, 0.5 x 10⁸, and 1 x 10⁸ cells, n=8 rabbits for each dose), followed by a 2-week recovery period. Another group of rabbits (n=6) was treated with saline only. To prevent immunoreactions and rejection of the administered cells all animals were treated daily with Tacrolimus (Prograf[®], s.c.) from day -3 until the end of the study. The study was performed under GLP conditions.

Results: Specific reactions were reported for animals of all treatment groups. No unexpected reactions were observed. Low dosed animals (0.25 x 10⁸, 0.5 x 10⁸ cells per day) showed mild clinical findings (signs of apathy, heart rate alterations and hyperventilation), slight changes in hema-

tological parameters (red blood cell system) and moderate elevations of liver enzymes (ALAT, ASAT and AP). Cell therapy related macroscopic and histological findings, especially in the liver and lungs, were observed in animals of all dose groups. The high dose (1 x 10⁸ cells per day) additionally induced slight anemia.

Conclusion: Overall, analyses identified the liver, the lungs and the red blood cell system as potential toxicological targets for intraportal allogenic liver cell infusion. A NOAEL (no observed adverse effect level) was not defined, however, all findings are expected and described in literature and are not considered critical for treatment in the intended patient populations (patients with acute liver failure and paediatric patients with inborn urea cycle defects).

Präkonditionierung der Empfängerleber durch selektive regionale Pfortaderischämie vor Leberzelltransplantation

*S. König, Q. Yuan, P. Krause,
S. Kafert-Kasting, H. Kriegbaum, M. Ott,
J. Meyburg
Göttingen, Hannover, Heidelberg*

Einleitung: Die Hepatozytentransplantation wird mehr und mehr als eine aussichtsreiche alternative Therapieoption bei schweren, angeborenen Stoffwechselerkrankungen der Leber und akutem Leberversagen angesehen. Im Falle der Stoffwechselerkrankungen könnte durch gezielte Vorbehandlung der Empfängerleber eine selektive Organrepopulation durch transplantierte Hepatozyten erreicht werden. Im Rattenmodell sollte zunächst untersucht werden, inwieweit eine temporäre, selektive regionale Ischämie der Pfortader zu einem reversiblen Reperfusionsschaden führt, der eine spätere Besiedlung durch transplantierte Hepatozyten begünstigt.

Methode: Für die Erzeugung einer Ischämie (bzw. Hypoxie) wurden die Pfortaderäste der rechtslateralen und rechtsanterioren Leberlappen (ca. 40% der Lebermasse) von Fischerratten mittels Yasargil-Klemmen über einen Zeitraum von 30, 60, 90 und 120 Minuten abgeklemmt und mit einer Kontrollgruppe (Sham-OP) bzw. normalem Lebergewebe verglichen. Zur Bestimmung der Proliferationsrate wurde den Tieren 2 Stunden vor der Organentnahme BrdU intraperitoneal injiziert. Die Blutent-

nahme zur Bestimmung der Serumtransaminasen und die Organentnahme unter Kennzeichnung der verschiedenen Leberlappen erfolgten 6h, 24h, 48h bzw. 7 Tage nach Reperfusion. Die Schädigung des Lebergewebes wurde mittels H/E-Färbung, TUNEL-Test und Immunhistochemie (BrdU, PCNA) untersucht. Die Quantifizierung von Apoptose erfolgte durch Cell Death Detection ELISA. Im Western Blot wurde der zeitliche Verlauf von Proliferationsmarkern, Zellzyklusproteinen und Apoptosemarkern verglichen.

Ergebnis: Die transiente Blockade eines Pfortaderastes über 30 und 60min führte nur zur geringen Schädigung mit einzelnen Zellnekrosen. Nach Abklemmung über 90 und 120min zeigten sich dagegen deutliche Zellschäden im nachgeschalteten Leberareal mit teils konfluierenden, portal betonten Zellnekrosen (6h und 24h der Reperfusion) und leukozytären Infiltraten (48h, 7d). Alle Schäden waren innerhalb von 7 Tagen reversibel. Die Untersuchung mittels TUNEL-Test ergab zum frühen Zeitpunkt (6h) sowohl ausgedehnte zytoplasmatische als auch nukleäre Anfärbungen von Hepatozyten, nachfolgende Zeitpunkte zeigten das typische Färbemuster des Zellkerns proportional zur Ischämiezeit mit rascher Abnahme im zeitlichen Verlauf. Der Anstieg der Serumtransaminasen nach Ischämie fiel insgesamt nur gering aus. Mit dem Cell Death Detection ELISA gelang zu keinem Zeitpunkt auch bei längerer Ischämiedauer ein überzeugender Nachweis von Apoptose. Die Detektion des BrdU-Einbaus und die PCNA-Immunreaktivität offenbarten nach 24h eine maximale proliferative Antwort nach Ischämieintervallen von 60 bis 120min. Die Proliferationsaktivität war nach 48h bereits deutlich zurückgegangen, nach 7 Tagen teilten sich nur noch einzelne Zellen. Im Western Blot konnte die regenerative Antwort (PCNA, Cyclin D1) bestätigt werden, die aktivierte Form der Caspase 3 nur sehr schwach zum frühen Zeitpunkt (6h) nachgewiesen werden.

Schlussfolgerung: Die selektive Pfortaderischämie von 90 bis 120min erzeugte eine deutliche – innerhalb von 7 Tagen reversible – Zellschädigung im betroffenen Leberlappen mit Nekrose als überwiegende Form des Zelluntergangs. Möglicherweise könnten frühzeitig transplantierte Hepatozyten in eine so vorbereitete Leber schneller integrieren und sich während der Geweberegeneration weiter vermehren. Weitere Untersuchungen werden in Kürze zeigen, ob die Hepatozytentransplantation in eine durch Ischämie präkonditionierte

Leber einen Wachstumsvorteil für die Spenderzellen ergibt.

Transplantation von Neohep-Cells erhöht postoperatives Überleben nach experimenteller Leberteileresektion

G. Gäbelein, M. Glanemann, N. Nüssler,
V. Merk, Z. Kronbach, F. Fändrich,
P. Neuhaus, A. Nüssler
Berlin

Einleitung: Trotz Fortschritte in Chirurgie und Anästhesie bei erweiterter Leberteileresektion ist die postoperative Leberinsuffizienz noch immer verbunden mit hoher Morbidität und Mortalität. Die Hepatozytentransplantation als mögliche unterstützende Maßnahme scheitert am Mangel von primären Hepatozyten. Mit der Entwicklung von NeohepCells steht eine Zelllinie mit hepatozytären Eigenschaften zur Verfügung. Wir untersuchten die Effizienz implantierter NeohepCells in einem experimentellen Modell chirurgisch induzierten Leberversagens.

Methode: 24 Stunden vor einer 90% Leberteileresektion wurden Zellen verschiedenen Ursprungs in die Milz von männlichen Wistar-Ratten injiziert. In einem Beobachtungszeitraum von 5 Tagen wurden postoperatives Gewicht, Zeichen der Enzephalopathie und Überleben festgehalten. Drei Gruppen wurden verglichen: Injektion von A) 1ml 0,9% NaCl-Lösung, B) 24×10^6 Rattenhepatozyten und C) 24×10^6 Neohep-Cells. Am Ende des Beobachtungszeitraumes wurden Blutproben zur Bestimmung von Laborparametern der überlebenden Tiere entnommen (AST, Bilirubin, Albumin). Es erfolgten histologische Schnitte (HE) zur Beurteilung der Zellintegration und Albumin-Färbungen zur Beurteilung der Zellfunktionalität.

Ergebnis: In den HE-Färbungen der Milz waren vitale und integrierte Hepatozyten bzw. NeohepCells nachweisbar. Auch konnte mittels Albumin-Färbungen Albumin in der Milz nachgewiesen werden. Bezüglich der Laborergebnisse am Tag 5 nach Resektion war kein Unterschied in den überlebenden Tieren zu finden. Allerdings war, verglichen zu den Kontrollen in Gruppe A (33%), ein deutlich höheres Überleben nach Implantation von Rattenhepatozyten (Gruppe B, 66%) sowie nach Implantation von NeohepCells (Gruppe C,

55%) zu verzeichnen. Auch sahen wir seltener Zeichen einer postoperativen Enzephalopathie sowie eine frühere Genesung im Sinne der postoperativen Gewichtszunahme in den Gruppen B und C.

Schlussfolgerung: Die Vision einer Eigenleberzell-Spende vor geplanter Leberresektion (analog zur Eigenblut-Spende) scheint somit durchaus möglich, um situationsgerecht die mit Morbidität und Mortalität assoziierte postoperative Leberinsuffizienz zu behandeln.

Literatur:

1. *J Hepatol (2006) Present status and perspectives of cell-based therapies for liver diseases*
2. *Ruhnke (2005) Transplantation: Human monocyte-derived neohepatocytes: a promising alternative to primary human hepatocytes for autologous cell therapy*
3. *Gupta (1992) Hepatology: Hepatocyte transplantation: back to the future*

Bone Marrow derived mesenchymal stem cells for therapeutic intervention in tumors and liver disease

I. Herr, B. Beckermann, G. Kallifatidis,
A. Groth, A. Apel, V. Rausch, A. Salnikov,
M. Schubert, A. Ho, M. W. Büchler,
H. Friess, P. Büchler
Heidelberg

Introduction: Human mesenchymal stem cells (MSCs) derived from bone marrow (BM) comprise an adult population that may participate in the repair of tissue damage inflicted by natural expire of cells, injury, or disease. In recent reports homing of MSCs to glioma cells or mouse xenograft models has been demonstrated. The liver is no exception, since the fibrotic response that surrounds many carcinomas emanates from BM-derived cells and, in HCC and hepatoblastoma, hepatocyte growth factor (HGF) produced by tumor-associated myofibroblasts promotes invasion of BM-derived progenitor cells and tumor growth. MSCs have attracted much attention for their potential therapeutic applications and are suggested as attractive target cells for ex vivo gene delivery to solid tumors although studies exploiting MSCs in the context of cancer are limited. The ability of MSCs to migrate to areas of injury such as fibrotic tissue and to tumors has encouraged investigation of MSCs as therapeutic tools.

Methods: We selected autologous MSCs from intraoperatively harvested BM by Fi-

coll centrifugation, plastic adherence and culture in a special selection media. Mechanisms of specific migration towards tumors, growth factors and hypoxia are detected by transwell assays in vitro. For efficient transfer of the GFP marker gene and of therapeutic genes we cloned the Puromycin resistance gene into a lentiviral vector. The phenotype and multipotency of manipulated MSCs was confirmed by growth curves and transdifferentiation into adipocytes and osteocytes. Sprouting assays and immuno staining were used for analysis of MSCs' angiogenic potential. For therapeutic intervention, we cloned siRNA oligonucleotides of HIF-1 and VEGF as well as the gene for the death ligand TRAIL in lentiviral vectors and confirmed the functionality of these constructs. For examination of in vivo migration we injected lentivirally marked MSCs into the tail vein of mice carrying orthotopic pancreatic cancer xenografts.

Results: BM-derived MSCs were selected and a 100% transduced MSC population expressing the lentiviral transferred GFP marker gene and therapeutic genes could be enriched. The lentiviral transduction does not alter the MSCs phenotype and transduced MSCs keep their differentiation capacities to adipocytes and osteoblasts. Injection of this lentiviral GFP-expressing MSCs into the tail vein of nude mice xenografted with an orthotopic growing pancreatic tumor demonstrated in vivo homing to the tumor and migration to a smaller extend to liver, lung and kidney. We found transdifferentiation of MSCs to endothelial cells in vitro and angiogenic potential, since sprouting of spheroids was enhanced when supernatant of MSCs was transferred. Our actual work focusses on intervention in tumor angiogenesis by using MSCs as vehicles to transfer therapeutic genes for inhibition of VEGF. Moreover, by transfer of the death ligand TRAIL, we expect to kill surrounding tumor cells and, in a fibrotic environment, activated stellate cells.

Conclusion: Autologous MSCs may be a powerful tool for transfer of therapeutic genes into tumors and for regeneration of injured liver, although this issue is not well examined and needs future experimental work as well as well controlled clinical studies.

References:

1. Kallifatidis G, Beckermann B, Groth A, Schubert M, Apel A, Wenger T, Chai M, Saffrich R, Krause U, Eckstein V, Schütz G, Ho A, Ryschich E, Büchler MW, Friess H, Büchler P, Herr I (2007) Improved lentiviral

transduction of mesenchymal stem cells enables efficient delivery of target genes to pancreatic tumors. (submitted)

2. Beckermann B, Kallifatidis G, Schubert M, Groth A, Rausch V, Wenger T, Saffrich R, Eckstein V, Su Y, Ho A, Büchler MW, Friess H, Büchler P, Herr I (2007) Angiogenic potential and specific migration of human mesenchymal stem cells towards cancer cells may be useful for therapeutic intervention in tumors. (in preparation)
3. Herr I, Schemmer P, Büchler MW: Novel and well-known key players in progression and therapy of hepatocellular carcinoma. Review Article (submitted)

In vitro transformation of peripheral monocytes to progenitor cells with putative hepatopoietic potential

A. Benesic, E. deToni, M. Bystron,
V. Gülberg, A. L. Gerbes
München

Introduction: Introduction: Liver transplantation is the only curative treatment for a broad range of diseases leading to acute or chronic liver failure. The increasing shortage in donor organs and side effects by the obligatory live-long immunosuppressive therapy necessitate the search for alternatives. There is considerable effort in establishing the use of adult stem cells for hepatocyte generation as a source of a large quantity of autologous hepatocytes/progenitors for cell transplantation. Aim of this study was to establish the generation of peripheral blood monocyte-derived hepatocytoid cells to enable their further use in transplantation experiments.

Methods: Peripheral monocytes of 3 healthy donors underwent gradient centrifugation and were enriched by adherence separation. These cells were incubated for 7 days in RPMI 1640 and serum containing M-CSF, IL-3 and beta-mercaptoethanol, differing from the published protocols [1, 2]. The following 14 days cells were cultivated in the presence of FGF-4 (RPMI 1640 + 10% FCS). Changes in cellular morphology were documented by light microscopy and expression of the markers CD14, CD45 and CD90 were investigated by FACS analysis. In addition to this protein content of adherent cells was measured by the bicinchoninic acid method. Furthermore, specific enzyme activities of dipeptidylpeptidase IV (DPP IV) and alanine-aminotransferase (ALT) were determined by spectrophotometric assays and compared to corresponding activities in HepG2 cells.

Results: Peripheral monocytes obtained by gradient centrifugation and following adherence separation showed expression of the monocyte marker CD14 in 61 % of the cells. The pan-leucocyte marker CD45 was expressed by > 80 % of isolated cells. The stem cells antigen CD90 was expressed by 2 % of these cells. After 7 days of culture in conditioning medium the cells underwent a change in morphology, increased in size and showed “colony-forming-units”. FACS analysis revealed an increase in CD90-expression to 44 % and a slight decrease in CD14 expression. The following incubation in the presence of FGF-4 led to a further increase in cell size and the development of an epithelial growth pattern. The expression of CD14 decreased further to 31 % on culture day 14 and 25 % on culture day 21, respectively. Additionally, CD90 expression was decreasing to 28 % on day 14 and 23 % on day 21. Analysis of protein content

showed a ~7 fold increase of adherent cell protein as well as increasing specific activities of DPP IV and ALT to values comparable to HepG2 cells.

Conclusion: We here provide evidence for a functional approximation of monocyte derived cells to HepG2 concerning DPP IV and ALT activities. The experimental transplantation of these cells to assess their possible benefit in animal models of acute and chronic liver failure is currently being established.

References:

1. Ruhnke M, Nussler AK, Ungefroren H, Hengstler JG, Kremer B, Hoeckh W et al. (2005a) Human Monocyte-Derived Neohepatocytes: A Promising Alternative to Primary Human Hepatocytes for Autologous Cell Therapy. *Miscellaneous Article. Transplantation* 79 (9): 1097-1103
2. Ruhnke M, Ungefroren H, Nussler A, Martin F, Brulport M, Schormann W et al. (2005b) Differentiation of In Vitro-Modified Human Peripheral Blood Monocytes Into Hepatocyte-like and Pancreatic Islet-like Cells. *Gastroenterology* 128 (7): 1774-1786

K. Rockenbauch, O. Decker, Y. Stöbel-Richter (Hrsg.)

Kompetent kommunizieren in Klinik und Praxis

Eine gelungene Kommunikation in Klinik und Praxis kommt dem persönlichen Befinden aller Beteiligten zugute - mit günstigen Folgen für therapeutische und ökonomische Ergebnisse.

Das Buch „Kompetent Kommunizieren“ leitet leicht verständlich (angehende) Mediziner/innen, Pflegende sowie Lehrende in der medizinischen Ausbildung an, gute Gespräche zu führen.

Die Schwerpunkte:

- Spezifische Grundlagen der Interaktion zwischen Ärztinnen/Ärzten und Patientinnen/Patienten
- Generelle Grundlagen der Kommunikation
- Gesprächstechniken und Gesprächsarten
- Gruppen
- Rollen- und andere Spiele

Der Band eignet sich ebenso zur Unterrichtsvorbereitung für Lehrende wie als Ratgeber und Nachschlagewerk für Ärztinnen/Ärzte, Pflegende und Angehörige verwandter Berufsgruppen.

284 Seiten, ISBN 978-3-89967-330-2, Preis: 25,- Euro

PABST SCIENCE PUBLISHERS

Eichengrund 28, 49525 Lengerich, Tel. ++ 49 (0) 5484-308, Fax ++ 49 (0) 5484-550,
E-Mail: pabst.publishers@t-online.de - Internet: www.pabst-publishers.de

Ischämie/Reperfusion

Einfluss einer warmischämischen Vorschädigung in Abhängigkeit von der Dauer der anschließenden Konservierungszeit auf die Leberviabilität

S. Manekeller, A. Hirner, T. Minor
Bonn

Einleitung: Weltweit werden in zunehmendem Maße auch Organe zur Transplantation herangezogen, welche erst nach Kreislaufstillstand des Spenders entnommen werden konnten. Dabei zeigen sich bei Nieren sog. non-heart beating donors (NHBD) klinisch bessere Ergebnisse als bei extrarenalen Organen. In dieser Studie sollte die Bedeutung einer warmischämischen Vorschädigung für die Leberviabilität erstmalig in Abhängigkeit von und im Vergleich zur Dauer der anschließenden Konservierungszeit untersucht werden.

Methode: Lebern männlicher Wistar-Ratten wurden mit 60ml HTK Konservierungslösung über die Pfortader blutleerspült und bei 4°C über 6h oder 18h ischämisch gelagert. Die Organentnahme erfolgte vor (Ktrl) oder 30min nach Induktion eines Kreislaufstillstandes durch Phrenotomie (NHBD). Im Anschluss an die hypotherme Konservierung erfolgte die Vitalitätsbeurteilung der Organe während einer 120-minütigen azellulären, oxygenierten normothermen Reperfusion in vitro. In einer Gruppe (+PK) wurde vor der Reperfusion der Versuch einer endischämischen Konditionierung durch 1h hypotherm-oxygenierte Maschinenperfusion mit HTK durchgeführt. Gemessen wurden vaskulärer Widerstand (Pa s ml⁻¹), Enzymverluste ins Perfusat (U/l), Sauerstoffverbrauch (µl/g/min), Galleproduktion (µl/g/h), Ammoniumclearance und die Gewebeexpression von Apoptosefaktoren (Caspasenaktivierung, PARP-Spaltprodukte in % baseline).

Ergebnis: Zelluläre Apoptose wurde sowohl durch warm-ischämische Belastung (NHBD) als auch hypotherme Konservierung getriggert. Die Apoptoseinduktion scheint dabei konkordant über die Aktivierung von Caspase 9 zu laufen. Vorgeschiedigte Lebern wirken nach begrenzter Konservierungszeit ähnlich vital wie länger gelagerte Kontrollen. Eine kurzzeitige Post-

konditionierung (PK) mittels hypotherm-oxygenierter Maschinenperfusion ermöglicht nach 6h Lagerung eine weitgehend vollständige Angleichung der Organintegrität von vorgeschädigten Lebern auch an vergleichbar kurz gelagerte Kontrollen.

Schlussfolgerung: Im Rahmen dieser Studie scheint auch für die Leber eine begrenzte Vorbelastung (30min) nur bei länger anschließenden Konservierungszeit zu den bekannten ausgeprägten Funktionseinbußen zu führen, während die Limitierung der Hypothermiephase eine überproportionale Besserung herbeiführt. Die Vorschädigung von im Kreislaufstillstand entnommenen Lebern muss bei angemessener Behandlung keine grundsätzlich negative Prognose präjudizieren.

Literatur:

1. Manekeller S, Minor T (2006) Possibility of conditioning predamaged grafts after cold storage: influence of oxygen and nutritive stimulation. *Transpl Int* 19 (8): 667-674

Impact of Iloprost on early graft viability after liver transplantation - First results of a prospective randomized placebo controlled single center trial

E. Bärthel, F. Rauchfuß, O. Habrecht,
A. Koch, A. Kornberg, U. Settmacher
Jena

Introduction: Ischemia/reperfusion injury (IR) after liver transplantation (LT) may be associated with primary dysfunction or nonfunction of the graft. Prostacyclines are suggested to have beneficial in vitro efficacy on extent of IR by improving liver perfusion and by protecting endothelial cells. The aim of this clinical trial was to analyze the impact of a systemically administered prostacyclin analogue on allograft viability after LT.

Methods: We initiated a prospective randomized placebo controlled single center study. All patients included were treated with a comparable calcineurin-inhibitor based quadruple induction immunosuppressive regimen. Patients of the treatment group received Iloprost (Ilomedin®, Schering GmbH, Berlin; 1ng/kgKG/min), sys-

temically administered for 7 days post-LT, in contrast to the control population. As primary endpoints were defined in hierarchical order: peak levels of transaminases (ASAT/ALAT) as surrogates for the progression of liver related injury; factor V, quick's value, bile production and the ICG-PDR as parameters of synthetical liver function; the arterial resistive index (RI) as parameter of liver perfusion; patient and graft survival. The differences between Iloprost- and control-group were calculated using a Mann-Wilcoxon U-Test, a p-value below 0,05 was considered to be significant. The results are expressed in terms of mean \pm SE.

Results: We present the results of the first 16 (8/8) patients included. In the treatment group we noticed a significantly better improvement of allograft synthetical capabilities on POD 1 (factor V: Iloprost: 54,4% \pm 6,8; control: 30,8% \pm 6,5; p=0,028) and POD 3 (quick's value: Iloprost: 81,1% \pm 6,0; control: 54,7% \pm 8,0; p=0,029). In addition, bile production was higher under Iloprost (POD 1: p=0,028 and POD 5: p=0,041). The arterial RI decreased in the treatment population significantly on POD 2 (p=0,004). Transaminases and ICG-PDR values were comparable between both cohorts. The 30-day-patient-survival was 100% in both groups. There were two cases of early graft failure (25%) due to arterial thrombosis in the control-group, and none under Iloprost. There were no reportable adverse effects of Iloprost therapy.

Conclusion: Our first results of an ongoing study are very encouraging. We assume Iloprost to be beneficial in ameliorating early posttransplant liver function. Whether the rate of primary and delayed allograft dysfunction will be reduced with this treatment concept has to be analyzed with a higher number of patients included in the future.

Hepatoprotektion durch die Protease Bromelain – Ein neuer Ansatz zur Therapie des Ischämie-/Reperfusionsschadens

*R. Bahde, D. Palmes, E. Minin,
U. Stratmann, R. Diller, J. Haier,
H.-U. Spiegel
Münster*

Einleitung: Die Protease Bromelain stellt wegen ihrer immunmodulatorischen Wirkung eine neue Behandlungsstrategie des hepatischen Ischämie-/Reperfusion (I/R)-

schadens dar. Die Wirkung der Protease wurde in Abhängigkeit von der Dosis-Wirkungsbeziehung auf die Leberschädigung und -funktion nach temporärer Ischämie unter besonderer Berücksichtigung der Leukozyten-Endothel-Interaktion untersucht.

Methode: Bei 140 Wistar-Ratten wurde eine 30-minütige normotherme Leberischämie mit portokavalem Shunt durch das Pringle-Manöver induziert. Es wurden 8 Kurzzeit-Gruppen nach Scheinoperation oder Ischämie und 12 Langzeit-Gruppen nach alleiniger ZVK-Anlage, Scheinoperation oder Ischämie untersucht (n=7). Die Tiere erhielten 60 Minuten präischämisch entweder keine Therapie, 0,1, 1,0 oder 10 mg/kg Körpergewicht (KG) i.v. In den Kurzzeit-Gruppen wurden 30 Minuten nach Reperfusion intravitalmikroskopisch mikrozirkulatorische Parameter und die Leukozyten-Endothel-Interaktion bestimmt. In den Langzeit-Gruppen wurden präischämisch, 2 und 6 Stunden sowie 2, 4, 6 und 14 Tage postoperativ die AST-, ALT- und Bradykinin-Spiegel gemessen. Die histologische Aufarbeitung erfolgte lichtmikroskopisch, elektronenmikroskopisch und immunhistochemisch (Apoptose, Kupffer-Zellen, Endothelzellschädigung, eNOS).

Ergebnis: Das Modell der 30-minütigen normothermen Leberischämie führte zu einem signifikanten Reperfusionsschaden der Leber. Niedrige Dosen Bromelain (0,1 mg/kg KG i.v.) verminderten den hepatischen Ischämie-/Reperfusionsschaden. Die Bradykinin-Ausschüttung war 2 h postischämisch nicht signifikant erhöht und eNOS wurde 2 h postischämisch verstärkt exprimiert. Intravitalmikroskopisch zeigte sich eine verbesserte Mikrozirkulation mit Erweiterung der Sinusoide, verbessertem Perfusionsstatus und verminderter Leukozytenadhärenz. Immunhistochemisch waren die Endothelzellschädigung, die Aktivierung der Kupffer-Zellen und die Apoptoserate vermindert. Serologisch spiegelte sich dieser Effekt in einer verminderten Freisetzung der Transaminasen wider. Hohe Dosen Bromelain (10 mg/kg KG i.v.) hingegen führten schon nach Scheinoperation zu einer Schädigung der Leber. Der Bradykinin-Spiegel war im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt, die Mikrozirkulation war bei Verengung der Sinusoide, Perfusionsstörungen und vermehrter Leukozytenadhärenz gestört. Es zeigte sich eine vermehrte Aktivierung der Kupffer-Zellen, Endothelzellschädigung und Apoptoserate bei signifikant erhöhten Transaminasen.

Schlussfolgerung: Die Protease Bromelain stellt einen neuen Ansatz zur Therapie des hepatischen I/R-Schadens mit allerdings engem therapeutischem Fenster dar.

Melatonin protects from hepatic reperfusion injury through inhibition of IKK and JNK pathways and modification of hepatocyte proliferation

*A. Nickkholgh, R. Liang, K. Hoffmann, M. Kern, H. Schneider, M. Sobirey, M. Zorn, J. Schmidt, M. W. Büchler, P. Schemmer
Heidelberg*

Introduction: Free radicals are involved in pathomechanisms of ischemia / reperfusion injury (IRI). Melatonin is a potent scavenger of reactive oxygen species. Thus, this study was designed to elucidate its effects in a combined hepatic warm ischemia / resection model simulating a live donor operation for liver transplantation.

Methods: The right lateral and caudate lobes (30% of liver) of female Sprague-Dawley rats (200 - 220 g) underwent warm ischemia for 30 minutes followed by resection of the non-ischemic liver tissue (70% of liver). Some rats were gavaged with 50 mg/kg melatonin 2 hrs before experiments. Controls received the same volume of vehicle. Transaminases, histology, immunohistochemistry, and fresh tissue flow cytometry were used to assess hepatic injury, cell proliferation, expression of molecular markers for IRI, NF-kappaB signaling, apoptosis, and regeneration. One-way analysis of variance (ANOVA) or Fisher's exact test were used as appropriate. Log rank analysis of Kaplan-Meier estimates was used for survival. Results are presented as mean \pm SEM.

Results: Melatonin significantly decreased ALT, AST and the indices for necrosis, liver damage, and leukocyte infiltration from 1871 \pm 136 U/l, 3637 \pm 254 U/l, 14.7 \pm 1.62, 1.6 \pm 0.22 and 20.9 \pm 1.53 to 1268 \pm 155 U/l, 2725 \pm 208 U/l, 6.8 \pm 1.20, 1.1 \pm 0.07 and 17.2 \pm 1.02, respectively. Melatonin led to significantly improved 1-week survival rates after resection which was associated with 35%-50% decreased expression of IKK, JNK1, and cJUN in liver ($p < 0.05$). In parallel, significantly reduced expression of both PCNA and Ki67 in liver was documented.

The therapeutic efficacy of the erythropoietin analogue, darbepoetin alpha, in experimental endotoxemic acute liver failure

*K. L. Minh, C. Eipel, K. Klemm, B. Vollmar
Rostock*

Introduction: In a variety of liver disorders inflammation [1] and apoptotic cell death [2] are important pathogenic components, finally leading to acute liver failure. Hematopoietic growth factors like erythropoietin are known to affect the interaction between apoptosis and inflammation in brain, kidney and myocardium [3]. The present study aimed to determine whether pre- as well as posttreatment with erythropoietin might also exert hepatoprotection in a model of acute liver failure.

Methods: Male C57BL/6J mice were challenged with D-galactosamine (GalN, 720 mg/kg bw ip) and E. coli lipopolysaccharide (LPS, 10 μ g/kg bw ip) and either pretreated (-24 h, GalN-LPS/DPOpre) or post-treated (+30 min, GalN-LPS/DPOpost) with darbepoetin alpha (DPO, 10 μ g/kg bw iv). Control mice received physiological saline (GalN-LPS/NaCl). Additional animals were treated with 0.9% NaCl alone and served for assessment of physiological parameters (control). Six hours after application of GalN-LPS or vehicle hepatic tissue damage and inflammatory response were analyzed by intravital fluorescence microscopy in ketamine/xylazine anaesthetized animals (n = 7 per group). After in vivo microscopy, animals were exsanguinated by puncture of the vena cava for immediate separation of EDTA plasma and liver tissue was preserved for subsequent Western blot analysis, histology and immunohistochemistry. Data are expressed as mean values \pm standard error of the mean. Statistical analysis was performed using ANOVA, followed by post-hoc-comparison (* $p < 0.05$ vs. control, # $p < 0.05$ vs. GalN-LPS/NaCl)

Results: Administration of GalN-LPS provoked marked hepatic damage, characterized by an 3-fold increase of leukocyte adherence, nutritive perfusion failure of ~40%, an 12-fold increase of hepatocellular apoptosis as well as enhanced enzyme release and necrotic cell death. DPO-pretreated as well as post-treated mice showed diminished intrahepatic leukocyte accumulation (n/mm²; GalN-LPS/DPOpre: 201 \pm 2*, GalN-LPS/DPOpost: 130 \pm 30*#, GalN-LPS/NaCl: 263 \pm 36*, NaCl: 84 \pm 11)

and improved hepatic microcirculation (% non-perfused sinusoids; $74.1 \pm 2.6^{\#}$, $76.8 \pm 3.5^{\#}$, $60.4 \pm 1.1^*$, 98.2 ± 0.2). Hepatocellular apoptosis, as assessed by in vivo bisbenzimidazole staining, cleaved caspase-3 immunostaining and Western blot protein analysis, was significantly reduced by 50-75% after DPO pre- as well as post-treatment. There was unchanged protein levels of antiapoptotic Bcl-XL and proliferating cell nuclear antigen, but slightly decreased proapoptotic Bax protein. In addition, pre- and post-treatment with DPO significantly abrogated necrotic cell death (% necrosis: $11 \pm 7^{\#}$, $18 \pm 7^{\#}$, $50 \pm 10^*$, 0.7 ± 0.5) and liver enzyme release (U/l ALT: $92 \pm 24^{\#}$, $145 \pm 76^*$, $267 \pm 51^*$, 34 ± 4), implying the overall benefit of DPO on liver tissue integrity.

Conclusion: These observations may stimulate the evaluation of DPO, a compound established as clinically safe [4], as hepatoprotective therapy in patients with acute liver injury.

References:

1. Jaeschke H, Hasegawa T (2006) Role of neutrophils in acute inflammatory liver injury. *Liver Int* 26: 912-9
2. Eipel C, Bordel R, Nickels RM, Menger MD, Vollmar B (2004) Impact of leukocytes and platelets in mediating hepatocyte apoptosis in a rat model of systemic endotoxemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 286: G769-76
3. Ghezzi P, Brines M (2004) Erythropoietin as an anti-apoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death Differ* 11: S37-44
4. Brandt JR, Avner ED, Hickman RO, Watkins SL (1999) Safety and efficacy of erythropoietin in children with chronic renal failure. *Pediatr Nephrol* 13: 143-7

Cholestase, aber nicht Steatose verstärkt eine Kupfferzellvermittelte Leberschädigung: Rolle der Cyclooxygenase-2

M. Bystron, C. J. Steib, J. Härtl, F. Roggel, C. Opelz, A. L. Gerbes
München

Einleitung: Neue Studien zeigen, dass Endotoxine eine wichtige Rolle in der Pathogenese chronischer Lebererkrankungen spielen. Es ist bekannt, dass Endotoxine Kupffer'sche Sternzellen aktivieren und dadurch Sauerstoffradikale, Zytokine und Eikosanoide freigesetzt werden. Dies sind Mediatoren der Zellschädigung und beeinträchtigen die hepatische Mikrozirkulation. Unklar ist bislang aber, ob hepatotoxische Effekte der Kupffer'schen Sternzellen (KS) durch die zu Grunde liegende Lebererkrankung beeinflusst werden. Wir haben

deswegen die Effekte der Kupfferzellaktivierung in normalen Lebern mit Lebern von Zucker-Ratten mit mikrovaskulärer Verfettung oder Ratten mit Cholestase nach Gallengangsligatur verglichen.

Methode: Cholestase wurde durch Ligatur und Durchtrennung des Gallenganges erzeugt. Lebern wurden nicht-rezirkulierend 2 Wochen nach Gallengangsligatur oder Sham-Operation perfundiert. Um die Effekte der Steatose zu vergleichen wurden 14 Wochen alte Zucker-Ratten perfundiert. 40 Minuten nach Anperfusion wurden Kupfferzellen mittels Zellwandbestandteilen von *Saccharomyces cerevisiae* (Zymosan A 150 µg/ml und 75 µg/ml) über 6 Minuten aktiviert. In einer Untergruppe der BDL-Tiere wurde der Cyclooxygenase-2 Inhibitor Dup 697 (1 µM) verwendet. Laktatdehydrogenase (LDH) im effluenten Perfusat wurde als Indikator von Zellschädigung gemessen. Lebergewebe wurde histologisch mittels HE und EvG-Färbung untersucht; die Dichte der Kupfferzellen wurde mittels ED2-Bestimmung ermittelt.

Ergebnis: In sham-operierten Tieren mit normaler Leberarchitektur führte eine Aktivierung der Kupfferzellen mittels Zymosan zu einem signifikanten Anstieg des portalen Druckes ($p < 0.05$) von 4.0 ± 0.8 auf 19.2 ± 3.1 cm H₂O, der LDH-Efflux stieg von 3 ± 1 auf 60 ± 14 mU/min x g Leber. Portaler Druckanstieg und Zellschädigung nach Kupfferzellaktivierung waren in Zucker-Ratten mit 50%iger Verfettung der Hepatozyten signifikant niedriger: Der portale Druck stieg auf maximal 13.1 ± 2.3 cm H₂O, der LDH-Efflux nur auf 7 ± 3 mU/min x g Leber. Im Gegensatz dazu reagierten fibrotische Lebern von gallengangsligierten Ratten mit einem signifikant höheren Anstieg des portalen Druckes (24.1 ± 2.3 cm H₂O) und LDH-Efflux (637 ± 215 mU/min x g liver) nach Kupfferzellaktivierung. Sogar die halbe Zymosankonzentration erhöhte hier den Druck immer noch auf 19.0 ± 1.1 cm H₂O und führte zu einem LDH-Efflux von 260 ± 97 mU/min x g Leber. Die verschiedenen Effekte der Kupfferzellaktivierung wurden mit der Kupfferzellendichte korreliert: Während sich in normalen Lebern 454 ± 16 ED2+KS/10 HPF fanden, zeigte sich ein signifikanter Abfall in steatotischen Lebern (320 ± 40 ED2+KS/10 HPF), aber ein signifikanter Anstieg in cholestatichen Lebern (792 ± 60 ED2+KS/10 HPF). Interessanterweise führte die Hemmung der Cyclooxygenase-2 durch Dup 697 zu einem signifikant niedrigeren Anstieg des LDH-Effluxes in cholestatichen Lebern nach Kupfferzellaktivierung auf nur

160±64 mU/min x g Leber; der maximale Anstieg des portalen Druckes wurde auf 12.8±1.1 cm H₂O reduziert.

Schlussfolgerung: Cholestase, aber nicht Steatose verstärkt eine Kupfferzell-vermittelte Leberschädigung. Diese Cholestase-bedingte Leberschädigung scheint Cyclooxygenase-2-abhängig und durch eine Zunahme der Kupfferzell-dichte bedingt zu sein.

Glycine improves survival after extended cold ischemia in a small-for-size liver transplantation model

*Y. Gu, J. F. Schlaak, H. de Groot, C. E. Broelsch, U. Rauen
Essen*

Introduction: The amino acid glycine has been shown to inhibit hypoxic injury to hepatocytes and Kupffer cell activation. These properties might help to decrease liver graft injury during cold preservation and after liver transplantation. The aim of this study was to assess the effect of glycine on survival and postoperative liver injury after small-for-size liver transplantation using a rat model.

Methods: Inbred male Lewis rats (250-300 g) were used. 30% liver grafts were preserved at 4°C with HTK solution (n=7) or modified HTK solution (containing, among others, 10 mmol/L glycine) for 5 hours (n=5, each solution) or 8 hours (n=7, each solution) before transplantation. In an additional group, donors were pretreated with glycine (5% glycine in rat chow for 5 days); grafts were then preserved for 8 hours with modified HTK solution (n=7).

Results: All animals receiving 30% liver grafts with 5 hour cold storage survived, but prolonging cold preservation to 8 hours led to a marked decrease of 7-day-survival (HTK: 42.9% vs. 100%, p<0.05; modified HTK solution: 57.1% vs. 100%, p<0.05). However, there was a noticeable increase of survival when the donor was pretreated with glycine (85.7%).

Conclusion: The animal survival was significantly reduced after only 3 hours prolongation of the cold storage for a small-for-size graft, suggesting that the small-for-size grafts are particularly sensitive to cold storage injury. Glycine pretreatment of the donor apparently decreases this sensitivity, while glycine in the preservation solution had less effect, suggesting that the

presence of this amino acid is already required during procurement.

Längeres Überleben nach Lebertransplantation in Ratten unter Verwendung modifizierter HTK-Lösungen

*C. Fingas, H. de Groot, U. Rauen
Essen*

Einleitung: Im Rahmen von (Leber-)transplantationen (LTx) ist für die Verbesserung der Transplantatqualität bei gleichzeitig verlängerten Kaltischämiezeiten jedwede Verminderung von Konservierungsschädigungen wünschenswert. Die auf Basis der HTK-Lösung weiterentwickelte Konservierungslösung N46 trägt neueren Erkenntnissen über die frühe Transplantat-schädigung u. a. durch die Zugabe von Glycin [1] und Eisenchelatoren [2] sowie den partiellen Austausch von Histidin durch N-Acetyl-L-histidin [3] Rechnung. Ziel unserer Untersuchung war es, die anhand von Leberzellkulturen und perfundierten Rattenlebern bereits gezeigten Vorteile der neuen Lösung (ohne und mit Zusatz von Eisenchelatoren) gegenüber HTK in einem Rattenmodell der LTx zu überprüfen.

Methode: 250-300 g schwere, männliche Lewis-Ratten (Spender und Empfänger) wurden einer Full size-LTx in Cuff-Technik (Kaltischämiezeit: 18 Stunden; Warmischämiezeit: einheitlich 20 Minuten) unterzogen. In drei verblindeten Gruppen mit je n=8 LTx wurde dabei die Konservierungslösung N46 (Köhler Chemie, Alsbach-Hähnlein, Deutschland) ohne und mit Zusatz von zwei Eisenchelatoren (N46+; 0,1 mM Deferoxamin [Desferal®], 10 µM LK614 [Hydroxamsäurederivat mit verbesserter Membranpermeabilität]) gegen HTK (Custodiol®) verglichen. Überlebenden Tieren wurde am 7. postoperativen Tag retrobulbär Blut zur Bestimmung der Enzyme GOT, GPT, AP und LDH sowie von Bilirubin und der Thromboplastinzeit (TPZ) abgenommen. Am 28. postoperativen Tag erfolgten schließlich Tötung und Probeentnahmen (erneut Serumparameter, TPZ; Leberhistologie).

Ergebnis: Unter Verwendung von N46+ zeigten transplantierte Ratten ein im Vergleich zur N46- und HTK-Gruppe längeres Überleben (100% vs. 88% vs. 63%; je n=8; identisches 7- u. 28-Tagesüberleben). Beim direkten Vergleich N46+ vs. HTK

mittels Logrank-Test wurde die Signifikanz dabei nur knapp verfehlt ($N = 3,48$; $p = 0,063$). Tiere der N46+-Gruppe wiesen einen Monat nach LTx mit $14 \pm 7\%$ auch die größte relative Körpergewichtszunahme auf (N46: $10 \pm 15\%$; HTK: $12 \pm 18\%$). Am 7. postoperativen Tag zeigten sich die Transaminasen bereits wieder weitgehend normwertig. Signifikant war hier lediglich eine Erhöhung der AP bei den N46+- verglichen mit den HTK-Tieren (1056 ± 241 U/l vs. 653 ± 71 U/l; $p < 0,05$). Einen Monat nach LTx fanden sich die meisten Serumparameter weiter rückläufig und waren im Falle der N46+-Ratten bzgl. der GOT, GPT, LDH und TPZ am niedrigsten (n. s.). Die histologische Aus-

wertung wurde bisher noch nicht abgeschlossen.

Schlussfolgerung: Diese Daten demonstrieren erstmals ein längeres Überleben nach Transplantation von Rattenlebern bei Verwendung der neueren Konservierungslösungen N46 und N46+. In weiteren Experimenten soll nun N46+ vs. HTK unter verschärften Versuchsbedingungen mit verlängerten Kaltischämiezeiten und früherer Erfassung der postoperativen Serumparameter/TPZ verglichen werden.

Literatur:

1. Frank A et al. (2000) *J Hepatol* 32: 58-66
2. Rauen U et al. (2003) *Free Radic Bio Med* 35 (12): 1664-16783
4. Rauen U et al. (2007) *Cell Mol Life Sci* 64 (2): 192-205

Akademie Niere (Hrsg.)

II. Intensivkurs Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Akademie Niere

Der „Intensivkurs Nieren- und Hochdruckkrankheiten“ bietet ein Update zu relevanten klinischen Arbeitsfeldern - für Internisten, Chirurgen, Intensivmediziner. Die 43 konzentriert und präzise geschriebenen Beiträge vermitteln umsetzbares Wissen zu den Themen

- glomeruläre Erkrankungen
- Systemerkrankungen
- Elektrolytstörungen, akutes Nierenversagen
- chronische Niereninsuffizienz, Dialyse
- Nierentransplantation
- Hypertonie

Der Band eignet sich als Nachschlagewerk. Er enthält reichhaltige Illustrationen und konkrete Therapieanleitungen.

416 Seiten, ISBN 978-3-89967-391-3, Preis: 40,- Euro

PABST SCIENCE PUBLISHERS
Eichengrund 28, 49525 Lengerich, Tel. ++ 49 (0) 5484-308,
Fax ++ 49 (0) 5484-550, E-Mail: pabst.publishers@t-online.de
Internet: www.pabst-publishers.de

Hepatitis

Efficacy of an escalating dose regimen of pegylated interferon alpha-2a plus ribavirin in the early phase of HCV reinfection after liver transplantation

T. Zimmermann, W. O. Böcher,
G. Greif-Higer, A. P. Barreiros, M. Sprinzl,
G. Otto, P. R. Galle, M. Schuchmann
Mainz

Introduction: We evaluated safety and efficacy of an escalating dose regimen of pegylated interferon a-2a (PEG-IFNa-2a) and ribavirin in the early phase of recurrent hepatitis C after orthotopic liver transplantation (OLT).

Methods: In this prospective study, 26 patients transplanted for HCV-cirrhosis with recurrent hepatitis C were treated 3.4 ± 3.6 months after OLT and compared with an untreated historical control. PEG-IFNa-2a was initiated as monotherapy, following stepwise dose escalation up to 180µg/week and addition of ribavirin up to 1200mg/day or maximally tolerated doses for 48 weeks.

Results: In the intent to treat analysis, 38% showed an early virological response (EVR), 35% an end of treatment response (ETR) and 19% a sustained virological response (SVR). SVR was associated with EVR (p=0.0001) and cumulative PEG-IFNa-2a dose (p=0.04). There was no significant histological improvement compared to untreated patients. There were no treatment related serious adverse events (SAE). Adverse events included leukopenia (77%) and thrombocytopenia (46%). Three patients discontinued therapy due to side effects, seven were non-responders and four relapsers.

Conclusion: Treatment with PEG-IFNa-2a and ribavirin in the acute phase of post-transplant recurrent hepatitis C yielded an EVR of 38% and a SVR of 19%. The combination was safe and well tolerated.

References:

1. Fernández I, Meneu JC, Colina F et al. (2006) Clinical and histological efficacy of pegylated interferon and ribavirin therapy of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Liver Transplantation* 12 (12): 1805-1812
2. Gane E (2003) The natural history and outcome of liver transplantation in hepatitis C virus infected recipients. *Liver Transpl* 11: 28-34

3. Rodrigues-Luna H, Khatib A, Sharma P et al. (2004) Treatment of recurrent hepatitis C after liver transplantation with combination of pegylated interferon alpha 2b and ribavirin: an open label series. *Transplantation* 77: 190-194
4. Samuel D, Bizollon T, Feray C, Roche B, Si Ahmed SN, Lemonnier C et al. (2003) Interferon-a 2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C after liver transplantation: a randomized study. *Gastroenterology* 124: 642-650
5. Triantos C, Samonakis D, Stigliano R, Thalheimer U, Patch D, Burroughs A (2005) Liver transplantation and hepatitis C virus: systematic review of antiviral therapy. *Transplantation* 79 (3): 261-268

CCR2 V64I Polymorphism: Risikofaktor für Hepatitis-C-positive Patienten nach orthotoper Lebertransplantation?

J. Knaak, Mainz

Einleitung: Das Chemokin MCP-1 und sein Rezeptor CCR2 nehmen eine Schlüsselrolle in der postoperativen Immunmodulation nach orthotoper Lebertransplantation (OLT) ein. Für den MCP-1-exklusiven Rezeptor CCR2 ist der „single nucleotide“ Polymorphismus (SNP) V64I (Valin an Codon 64 gegen Isoleucin getauscht) beschrieben. Wir haben den Einfluss des V64I Polymorphismus auf das Transplantat- und Patientenüberleben untersucht.

Methode: Im Zeitraum von 9/97 bis 8/06 wurde von lebertransplantierten Patienten (n = 267) genomische DNA isoliert und die CCR2-Genotypisierung mittels Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET)-DNA-Hybridisierungssonden (LightCycler) analysiert. Der MCP-1-Serumspiegel wurde mittels ELISA bestimmt.

Ergebnis: n=47 Patienten (Alter: 51,6 ± 10,4; 22-69) trugen das I-Allel (V/I n = 44, I/I n = 3); bei n=219 Patienten (Alter: 50,6 ± 11,6; 16-69) lag der V/V-Genotyp vor. Das 5-Jahres-Transplantatüberleben betrug 80% bei I-Allelträgern, während es bei Patienten mit V/V-Allelen mit 60% niedriger lag (p = 0,08 log rank-test). Das 5-Jahres-Überleben von Patienten mit I-Allel betrug 88% im Vergleich zu 75% von V/V-Allelträgern (p = 0,19 log rank). Fast alle Sterbefälle der V64I-positiven Patienten waren HCV-positiv. Bei HCV-positiven Patienten lag das 5-Jahres-Patienten-

überleben bei 60% bei I-Allel, während das V-Allel bei 75% lag ($p = 0,14$ log rank), das Organüberleben lag bei 75% (V-Allele) versus 50% bei I-Allel ($p = 0,11$ log rank). Bei HCV-negativen Patienten zeigte sich ein umgekehrtes Überleben: I-Allel zeigten ein Patientenüberleben von 97% sowie ein Organüberleben von 95%, demgegenüber überlebten 76% der Patienten ($p = 0,01$ log rank) und 64% der Organe ($p = 0,02$ log rank) mit V-Allel. Der MCP-1-Spiegel im Blut von Patienten mit I-Allel war mit $171,9 \pm 134,5$ pg/ml signifikant.

Lebertransplantation bei HCV/ HIV-Koinfektion und hepatozellulärem Karzinom - eine interdisziplinäre Herausforderung (case report)

*C. Berg, W. Steurer, M. Witte,
A. Königsrainer, M. Gregor, U. M. Lauer
Tübingen*

Einleitung: Noch bis vor wenigen Jahren galt das Vorliegen einer HIV-Infektion als eine Kontraindikation für eine eventuell notwendige Organtransplantation. Dank der herausragenden Erfolge bei der Behandlung der HIV-Infektion seit Einführung der hochaktiven antiretroviralen Therapie (HAART) werden seit 2003 Patienten mit einer HIV-Infektion nicht mehr generell von der Option einer Organtransplantation ausgeschlossen. 2006 wurde in Tübingen die erste Lebertransplantation bei einem Patienten mit einer HIV/HCV-Koinfektion bei Vorliegen eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) durchgeführt. Die Fallstudie stellt die Erfahrungen der ersten 6 Monate nach Lebertransplantation dar, wobei insbesondere auf die komplexen Interaktionen der immunsuppressiven mit der antiretroviralen Therapie, das Monitoring hinsichtlich möglicher HCC-Rezidive, der chronischen Hepatitis C und der HIV-Infektion, sowie die Notwendigkeit einer engen interdisziplinären Zusammenarbeit eingegangen wird.

Methode: Lebertransplantation bei einem 41-jährigen Patienten mit HCV/HIV Koinfektion und HCC auf dem Boden einer hepatischen Leberzirrhose. Monitoring der immunsuppressiven Therapie (Spiegelbestimmungen von Tacrolimus, Everolimus

und Mycophenolatmofetil) nach LTX. Überwachung bzgl. HCC-Rezidiv mittels AFP und CT-Diagnostik. Hepatitis-C- und HIV-Viruslast im Verlauf. Leberhistologie bei Transaminasenanstieg.

Ergebnis: Einmal wöchentliche Gaben von Tacrolimus und folgend Everolimus (jeweils 0,5 mg) waren unter einer antiretroviralen Therapie mit dem Proteaseinhibitor Fosamprenavir (Telzir®) für den Erhalt suffizienter Talspiegel ausreichend. Der AFP-Wert stellte sich als geeigneter Verlaufsparemeter hinsichtlich der Detektion eines HCC-Rezidives dar. Bei ansteigendem AFP-Wert 3 Monate nach Transplantation (von normal unmittelbar nach LTX auf 44 bzw. 116 ug/l im kurzfristigen Verlauf) konnte eine im CT aufgefallene solitäre Raumforderung in der linken Nebenniere (ca. 5 x 4 cm) mittels operativer Resektion als extrahepatische Manifestation eines HCC-Rezidives gesichert werden. Weitere Manifestationen eines HCC sind bei im weiteren Verlauf normwertigem AFP bisher nicht nachweisbar. Die HIV-Infektion zeigt sich im Verlauf unter HAART mit Viruslasten unter der Nachweisgrenze von <50 Kopien/ml Plasma stabil und suffizient therapiert. Die Bestimmung der HCV-Viruslast ergibt eine HCV-Reinfektion mit einer Viruslast > 13 Mio IE/ml.

Schlussfolgerung: Unsere Fallbeschreibung bestätigt, dass eine HIV-Infektion keine generelle Kontraindikation gegenüber einer Lebertransplantation darstellt. Engmaschige Spiegelkontrollen und Anpassung der immunsuppressiven Therapie sind zumindest in der ersten Phase nach Transplantation zur Überwachung der Wechselwirkungen mit der antiretroviralen Therapie unerlässlich. Die Kontrolle und Therapie der HIV- und HCV-Infektion durch einen mit der Thematik vertrauten Infektiologen und Hepatologen ist zu fordern. Bei ansteigenden Leberwerten ist die Indikation zu einer Leberpunktion mit Histologiegewinnung großzügig zu stellen. Die Möglichkeit zu einer Therapie der HCV-Infektion sollte in der Regel frühestens 6 Monate nach Transplantation evaluiert werden. Bei Vorliegen eines hepatozellulären Karzinoms in der explantierten Leber kann das AFP einen sinnvollen Verlaufsparemeter darstellen. Je nach Histologie sind zusätzliche bildgebende Verfahren wie eine abdominelle Sonographie oder eine CT- und MRT-Diagnostik zumindest alle 3 Monate indiziert.

Verzeichnis der Vorsitzenden und Referenten

R. Bahde

Klinik und Poliklinik für Allgemeine
Chirurgie
Abteilung Chirurgische Forschung
Universitätsklinikum Münster
Waldeyerstr. 1
48149 Münster

E. Bärthel

Universitätsklinikum Jena
Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie
Erlanger Allee 101
07740 Jena

A. Benesic

Klinikum der Universität
München Großhadern
Medizinische Klinik II
Marchioninstr. 15
81377 München

C. Berg

Univ.-Klinik Tübingen Abt. I -
Gastroenterologie, Hepatologie,
Infektiologie,
Otfried-Müller-Str. 10
72076 Tübingen

M. Bitzer

Medizinische Universitätsklinik
Tübingen - Gastroenterologie
Otfried-Müller-Str. 10
72076 Tübingen

C.E. Broelsch

Klinik für Allgemein-, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Universitätsklinik Essen
Hufelandstr. 55
D-45122 Essen

D. Bröring

Universitätsklinikum Schleswig-
Holstein, Campus Kiel
Klinik für Allgemeine Chirurgie und
Thoraxchirurgie
Arnold-Heller-Str. 7
24105 Kiel

M. W. Büchler

Chirurgische Klinik
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg

M. Bystron

Medizinische Klinik II
Klinikum Großhadern
Gastroenterologie und Hepatologie
Marchioninstr. 15
81377 München

B. Christ

Universitätsklinik und Poliklinik für
Innere Medizin I
Martin-Luther-Universität
Halle Wittenberg
Heinrich-Damerow-Str. 1
06097 Halle

V. Cicinnati

Universitätsklinikum Essen
Klinik für Allgemein- und
Transplantationschirurgie
Hufelandstr. 55
45122 Essen

J. Encke

IV. Medizinische
Universitätsklinik Heidelberg
Gastroenterologie, Infektiologie,
Vergiftungen
Fritz-Frey-Str. 11
69121 Heidelberg

G. Engelmann

Universität Heidelberg
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
Im Neuenheimer Feld 153
69120 Heidelberg

A. Etspüler

Universitätsklinikum Tübingen
Anästhesie
Hoppe-Seyler-Str. 3
72076 Tübingen

C. Fingas

Universitätsklinikum Essen
Allgemein, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Rellinghauser Str. 151
45128 Essen

L. Fischer

Chirurgische Klinik,
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg

C.-L. Fischer-Fröhlich

Deutsche Stiftung Organtransplantation -
Region Baden-Württemberg
Friedrichstr. 10
70174 Stuttgart

D. Foltys

Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Transplantationschirurgie
Langenbeckstr. 1
55101 Mainz

H. Fonouni

Chirurgische Klinik
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg

G. Gäbelein

Charite - Campus Virchow
Klinikum - Allgemein-, Viszeral- und
Transplantationschirurgie,
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

Y. Gu

Universität Essen
Abteilung für Allgemein-, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Hufelandstr. 55
45122 Essen

I. Herr

Chirurgische Universitätsklinik
Heidelberg + DKFZ
Molekulare Onko-Chirurgie
G403
Im Neuenheimer Feld 365
69118 Heidelberg

S. Hinz

Universitätsklinikum Schleswig-
Holstein
Klinik für Allg. Chirurgie und
Thoraxchirurgie
Arnold-Heller Str. 7
24105 Kiel

K. Hoffmann

Chirurgische Klinik
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg

S. Kafert-Kasting

Cytonet GmbH & Co. KG
Niederlassung Hannover
Feodor-Lynen-Str. 21
30625 Hannover

T. Kaller

Universitätsklinikum Hamburg
Eppendorf
Transplantationszentrum
Medizinische Psychologie
Martinistr. 52, Haus S35
20246 Hamburg

J. Klempnauer

Medizinische Hochschule Hannover
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover

J. Knaak

Transplantationschirurgie
Uniklinik Mainz
Langenbeckstraße
55131 Mainz

K. Knubben

Universitätsklinikum Tübingen
Allgemeine, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Hoppe-Seyler-Str. 3
72070 Tübingen

S. König

Klinik für Allgemein Chirurgie
Universitätsmedizin Göttingen
Robert-Koch-Str. 40
37099 Göttingen

A. Kornberg

Klinik für Allgemeine und Viszerale
Chirurgie
Universitätsklinikum Jena
Erlanger Allee 101
07747 Jena

W. Lauchart

Deutsche Stiftung Organtransplantation -
Region Baden-Württemberg
Friedrichstr. 10
70174 Stuttgart

U. Lauer

Medizinische Universitätsklinik
Tübingen
Gastroenterologie
Otfried-Müller-Str. 10
72076 Tübingen

Y.-M. A. Lee

IV. Medizinische Uniklinik
Heidelberg
Gastroenterologie, Infektiologie,
Vergiftungen
Fritz-Frey-Str. 11
69121 Heidelberg

M. Malinowski

Transplantationschirurgie
Charité - Campus Virchow Klinikum
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

S. Manekeller

Universitätsklinik Bonn
Chirurgie
Sigmund-Freud-Str. 25
53127 Bonn

U. Merle

Universitätsklinik Heidelberg
Innere Medizin IV
Im Neuenheimer Feld 410
69120 Heidelberg

J. Meyburg

Universitätsklinik für Kinder- und
Jugendmedizin
Allgemeine Pädiatrie
Im Neuenheimer Feld 150
69120 Heidelberg

K. L. Minh

Institut für Experimentelle Chirurgie
Schillingallee 70
18055 Rostock

T. Minor

Klinik und Poliklinik für Allgemein-,
Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie
Sigmund-Freud-Str. 25
53127 Bonn

S. Minouchehr

Transplantationschirurgie
Universität Mainz
Zaybachstr. 37
55128 Mainz

C. Moench

Klinikum der Johann-Wolfgang-
Goethe-Universität
Allgemein- und Gefäßchirurgie
Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt

Z. A. Mood

Chirurgische Klinik
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg

L. Müller

UKSH, Campus Kiel -
Allgemeine Chirurgie und
Thoraxchirurgie
Arnold-Heller-Str. 7
24105 Kiel

P. Neuhaus

Charité, Campus Virchow-Klinikum
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

A. Nickkholgh

Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg
Chirurgische Universitätsklinik
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg

M. Ott

Medizinische Hochschule Hannover
Gastroenterologie, Hepatologie,
Endokrinologie
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover

D. Palmes

Klinik und Poliklinik für Allgemeine
Chirurgie
Abteilung Chirurgische Forschung
Waldeyerstr. 1
48149 Münster

A. Paul

Klinik für Allgemein-, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Universitätsklinik Essen
Hufelandstr. 55
45122 Essen

U. Rauen

Institut für Physiologische Chemie
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55
45122 Essen

F. Rayya

Universitätsklinikum Leipzig
Chirurgische Klinik II
Liebigstr. 20
04103 Leipzig

V. Sauer

Uniklinik Münster
Transplantationshepatologie
Domagkstr. 3a
48149 Münster

P. Schemmer

Chirurgische Klinik
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg

M. N. Scherer

Uniklinik Regensburg
Klinik und Poliklinik für Chirurgie und
Transplantation
Franz-Josef-Strauss-Allee 11
93053 Regensburg

H. Schmidt

Transplantationszentrum Münster
Albert-Schweitzer-Str. 33
Ebene 07 Ost
48149 Münster

J. Schmidt

Chirurgische Klinik
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 110
69120 Heidelberg

A. Schnitzbauer

Klinik und Poliklinik für Chirurgie
Universität Regensburg
Franz-Josef-Strauß-Allee 11
93042 Regensburg

M. F. Sprinzl

Johannes-Gutenberg-Universität
I. Medizinische Klinik und Polyklinik
Langenbeckstr. 1
55101 Mainz

J. Stange

Klinik für Innere Medizin/Dialyse
E-Heydemann-Str. 6
18055 Rostock

M. Stockmann

Transplantationschirurgie -
Charité - Campus Virchow Klinikum
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin

S. Stöppeler

Klinik und Poliklinik für Allgemeine
Chirurgie
Abteilung Chirurgische Forschung
Waldeyerstr. 1
48149 Münster

C. W. Strey

Universitätsklinikum Frankfurt am Main
Klinik für Allgemeine und
Gefäßchirurgie
Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt

R. Tetzlaff

Deutsches Krebsforschungszentrum
Medizinische und Biologische Informatik
Im Neuenheimer Feld 280
69120 Heidelberg

C. Thiel

Universitätsklinikum Tübingen
Allgemeine, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Hoppe-Seyler-Str. 3
72076 Tübingen

K. Thrum

Chirurgische Universitätsklinik Jena
Klinik für Allgemeine, Viscerale und
Gefäßchirurgie
Erlanger Allee 101
07740 Jena

H. L. Tillmann

Medizinische Klinik und Poliklinik II
Universitätsklinikum Leipzig AöR
Philipp-Rosenthal-Str. 27
04103 Leipzig

T. Y. Tsui

Klinik und Poliklinik für Chirurgie
Universität Regensburg
Franz-Josef-Strauß-Allee 11
93042 Regensburg

T. J. Weismüller

Medizinische Hochschule Hannover
Gastroenterologie, Hepatologie und
Endokrinologie
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover

K. H. Weiss

Universitätsklinik Heidelberg
Innere Medizin IV
Im Neuenheimer Feld 410
69120 Heidelberg

I. Wolf

Deutsches Krebsforschungszentrum
Medizinische und Biologische Informatik
Im Neuenheimer Feld 280
69120 Heidelberg

W. Zangh

FAU Erlangen-Nürnberg
Chirurgie LTX
Krankenhausstr. 12
91054 Erlangen

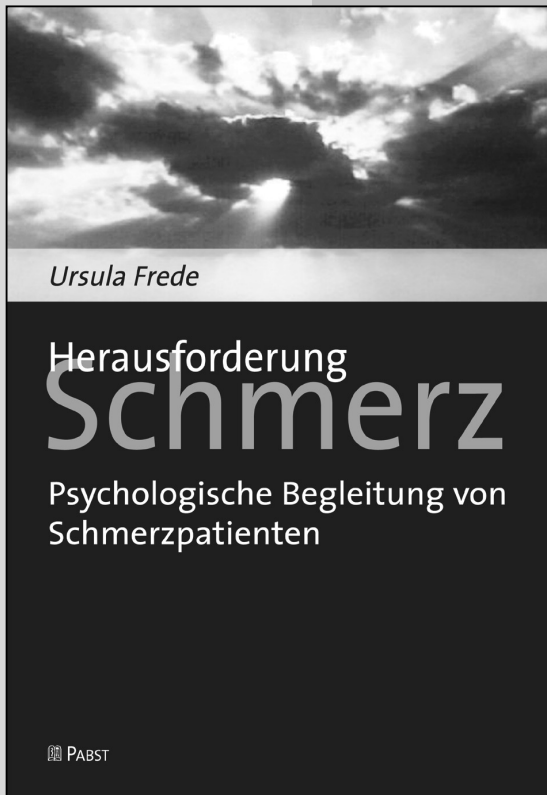
T. Zimmermann

I. Med. Klinik - Innere Medizin
Langenbeckstr. 1
55101 Mainz

Ursula Frede

Herausforderung Schmerz

Psychologische Begleitung von Schmerzpatienten



"Trotz vieler Jahre mit anhaltendem Schmerz kann ich für den Umgang mit ihm keine allgemeingültigen Regeln aufstellen. Jeder Mensch muss für sich einen Weg finden, mit dem Schmerz zu leben. Nicht, mit ihm fertig zu werden, nicht ihn zu bewältigen. Aber: mit ihm zu leben. Mir persönlich scheint insbesondere eines wichtig: mich nicht als Opfer des Schmerzes zu sehen, ihn weder als Feind noch als Freund zu betrachten, sondern mit Gleichmut. Etwa so, wie ich das näher rückende Alter oder den Tod betrachte - als Bestandteil menschlichen Daseins."

Vor dem Hintergrund dieser Philosophie hat Ursula Frede ihren Ratgeber zur Schmerztherapie geschrieben. Die Autorin verfügt über einen doppelten Erfahrungshintergrund - als chronische Schmerzpatientin und klinische Psychologin. Das Buch integriert eigene Erfahrungen mit wissenschaftlich fundierten Informationen - unter den Stichworten

- Weltanschauung und Menschenbild
- Die Situation von Schmerzpatienten
- Theoretische Konzepte
- Neurobiologische Grundlagen
- Leitlinien für die psychologische Begleitung von Schmerzpatienten
- Verständigung über den Schmerz
- Therapeutische Grundprinzipien
- Therapeutische Interventionen
- Fallbeispiel



PABST SCIENCE PUBLISHERS
Eichengrund 28
D-49525 Lengerich,
Tel. ++ 49 (0) 5484-308,
Fax ++ 49 (0) 5484-550,
pabst.publishers@t-online.de
www.pabst-publishers.de

376 Seiten, ISBN 978-3-89967-378-4
Preis: 25,- Euro