

Aus der
Chirurgischen Klinik und Poliklinik Großhadern
der Ludwig Maximilians Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. K.W. Jauch

Die ischämische Präkonditionierung
als Konzept zur Verbesserung der Ergebnisse
nach Leberresektionen beim Menschen

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig Maximilians Universität zu München

vorgelegt von Andreas Maximilian Volk
aus Stuttgart

2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. R.J. Schauer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Enders

Prof. Dr. E. Fink

Prof. Dr. B. Walzog

Dekan: Prof. Dr. med. Dr.h.c. K.Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 20.11.2003

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	4
1 Einleitung	5
1.1 Leberresektion.....	5
1.2 Lebermorphologie.....	8
1.3 Pathomechanismen hepatischer Ischämie- Reperfusionsschäden (IRS)	10
1.4 Möglichkeiten zur Reduktion von hepatischen IRS	14
1.5 Ischämische Präkonditionierung (IPC)	15
2 Fragestellung	18
3 Patienten und Methoden	19
3.1 Patientenselektion und Randomisierung	19
3.2 Studienprotokoll.....	21
3.3 Perioperativer Ablauf	23
3.3.1 Anästhesie	23
3.3.2 Operatives Vorgehen.....	23
3.3.3 Postoperativer Verlauf.....	24
3.4 Zielparameter.....	25
3.5 Bestimmungen.....	26
3.5.1 Postoperativer Leberschaden	26
3.5.2 Intraoperative Flowmessungen.....	26
3.5.3 Histologische Untersuchungen	26
3.5.4 Bestimmung des Antioxidans Glutathion.....	27
3.6 Statistik	27

4	Ergebnisse	29
4.1	Patientencharakteristik und Operationsverfahren.....	29
4.1.1	Intraoperative Parameter.....	35
4.1.2	Leberperfusion	36
4.2	Postoperativer Verlauf	37
4.2.1	Laborparameter	41
4.2.2	Prädiktoren für den intraoperativen Blutverlust	46
4.2.3	Prädiktoren für das Auftreten von postoperativen Komplikationen.....	47
4.3	Antioxidantien	48
5	Diskussion	51
5.1	Patienten.....	51
5.2	Bedeutung der Leberchirurgie heute	52
5.3	Verfahren zur Reduzierung des intraoperativen Blutverlusts	53
5.4	Diskussion der Ergebnisse.....	55
5.4.1	Patienten.....	55
5.4.2	Hepatozelluläre Schäden	55
5.4.3	Bilirubin.....	57
5.4.4	Blutgerinnung (Quick-Wert).....	58
5.4.5	Blutverlust	59
5.4.6	Postoperative Komplikationen.....	60
5.4.7	Postischämische Glutathion-Plasmaspiegel.....	63
5.4.8	Einfluß der ischämischen Präkonditionierung auf die Leberperfusion	65
6	Zusammenfassung	68
7	Literatur	71
8	Abkürzungen	84
	Danksagung	85
	Lebenslauf	86

1 Einleitung

1.1 Leberresektion

Schon in den ältesten Dokumenten aus Mesopotamien, etwa um 3500 v. Chr. sind auf Keilschrifttafeln eindeutige Hinweise zur Leberanatomie der Sumerer, Babylonier und Akkader überliefert, wobei der Leber eine besondere Bedeutung als schicksalstragendes Organ beigemessen wurde. Nach der Beschaffenheit der Oberfläche, Konfiguration und Konsistenz wurde eine Vorhersage getroffen und als schicksalsbestimmend angesehen (Köckerling 1999).

Es vergingen viele Hunderte von Jahren bis die Leberchirurgie im eigentlichen Sinne begann. Die erste erfolgreiche Leberresektion in Deutschland wurde 1886 vorgenommen (Langenbuch 1888). Dabei handelte es sich um die Entfernung eines sog. Schnürlappens, der mit Hilfe von Durchstechungsligaturen abgetrennt wurde.

Insbesondere in den letzten Jahren hat die Leberchirurgie eine rasante Weiterentwicklung erfahren. Daher werden heute resezierende Eingriffe an der Leber bei unterschiedlichsten Erkrankungsbildern durchgeführt. Indikationen sind vor allem Tumorerkrankungen, insbesondere primäre und sekundäre maligne Prozesse, gefolgt von benignen Tumoren und einigen nicht tumorösen Veränderungen (Scheele 2001). Insbesondere in der Metastasen-chirurgie zeigen aktuelle Arbeiten 5 – Jahresüberlebensraten von 27 – 37 % bei Leberresektionen nach kolorektalen Primär-Karzinomen (Fong 1999) (Hughes 1986) (Jamison 1987) (Nordlinger 1996) (Scheele 1995). Diese Zahlen unterstreichen damit heute eindrucksvoll den therapeutischen Erfolg und Stellenwert dieser Eingriffe (Fong 1999). Zusätzlich lässt sich die rasche Fortentwicklung der Leberchirurgie auf weitere Faktoren zurückführen: zum einen durch die Erkenntnisse, dass die Regeneration der Leber sehr effektiv erfolgt: (Fausto 2000) (Michalopoulos 1997). Dafür sorgen Hepatozyten, Cholangiozyten, Endothel – und Kupfferzellen, die zeitlich verzögert die Regeneration der Leber bewerkstelligen. Insbesondere den Hepatozyten kommt dabei eine zentrale Rolle zu: in vitro Untersuchungen zeigten dabei (Fausto 2000) (Michalopoulos 1997), dass neben Zytokinen, wie TNF α und Interleukin 6, der Aktivierung von NF κ B und anderen Transkriptionsfaktoren, auch verschiedene Wachstumsfaktoren entscheidend sind. Hier sind vor allem HGF (Hepatocyte Growth Factor), TGF alpha (Transforming Growth Factor Alpha) und EGF (Epidermal Growth Factor) zu nennen, die durch ein komplexes Zusammenspiel Regenerations-

abläufe koordinieren. 1990 konnten Jansen et al (Jansen 1990) an Patienten, die aufgrund eines Lebertumors reseziert wurden, mittels Computertomographie zeigen, daß sich nach einer Follow-up-Zeit von 50 Tagen das verbliebene Restlebergewebe bis auf 75% des Leber-Ausgangsvolumens regeneriert hat. Neuere Daten aus dem Bereich der Leberlebenspende bei Erwachsenen zeigen, daß das Lebervolumen 12 Monate nach Leberlebenspende, 85% des ursprünglichen Volumens erreicht hat (Pascher 2002).

Neben diesen grundlegenden Erkenntnissen zur Leberregeneration haben aber auch weitere Faktoren entscheidenden Anteil an der Fortentwicklung der Leberchirurgie: neben einer verbesserten Patientenselektion sind Fortschritte im anästhesiologischen Bereich zu nennen, vor allem aber auch die Optimierung und Verfeinerung der operativen Techniken. Neueste Untersuchungen belegen eine erhebliche Reduktion der perioperativen Letalität und Morbidität nach großen Leberresektionen und darüber hinaus eine deutliche Prognoseverbesserung bei primären malignen Tumoren (Zhou 1996 et Fong 1999) sowie bei Metastasen colorectaler Carcinome hinsichtlich der gewonnenen Überlebenszeiten (Rees 1996) (Sugihara 1993).

Eine kompetente Operationsplanung und ein individuell sinnvolles Resektionsverfahren beinhalten zum einen die Kenntnis der segmentalen Lebergliederung nach Couinaud (Couinaud 1954) und ein sich daran orientierendes operatives Vorgehen.

Die Gefahr bei Leberteilresektionen bestand lange Zeit vor allem in der eingeschränkten Möglichkeit der Blutstillung während der Parenchymdurchtrennung. Auch heute ist die Minimierung des intraoperativen Blutverlusts ein wesentlicher Aspekt jeder Leberteilresektion. So waren in der Vergangenheit Operationen an der Leber oftmals mit starken Blutverlusten verbunden, die den Einsatz von teilweise großen Mengen an Transfusionsblut erforderlich machte. Auch wenn in den letzten Jahren das Risiko einer potentiellen Infektionsübertragung durch Blutprodukte durch strengere Spenderkriterien deutlich reduziert werden konnte, sind Blutungskomplikationen nicht nur intraoperativ für die Patienten bedrohlich, sondern bestimmen ganz wesentlich den postoperativen Verlauf. Hierbei sind vor allem drei Faktoren wichtig, auf die der intraoperative Blutverlust einen wichtigen Einfluß hat: *erstens* ist dabei die postoperative Komplikationsrate zu nennen. Tsao et al (Tsao 1994) und Tanabe et al (Tanabe 1995) konnten in großen retrospektiven Untersuchungen zeigen, dass ein erhöhter intraoperativer Blutverlust mit einer erhöhten postoperativen Komplikationsrate (z.B. Leberversagen, Infektionen u.a.) verbunden ist. *Zweitens*

besteht ein enger Zusammenhang zwischen dem intraoperativen Blutverlust und der Tumorrezidivrate: bereits 1988 zeigten Stephenson et al (Stephenson 1988) bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen, dass perioperative Bluttransfusionen während der Leberresektion mit einer erhöhten Rezidivrate und damit einer verminderten Überlebensprognose vergesellschaftet sind. Erst jüngst konnten Poon et al (Poon 2001) diese Beobachtung auch für das hepatozelluläre Karzinom (HCC) bestätigen. Die zugrundeliegenden immunologischen Mechanismen sind derzeit Stand intensiver Forschung (Heiss 1998/2000). *Drittens* zeigt eine von Jarnagin et al (Jarnagin 2002) durchgeführte Studie, dass der intraoperative Blutverlust maßgeblich mit der perioperativen Sterblichkeit korreliert.

Diese Erkenntnisse unterstreichen eindrucksvoll wie wichtig die Minimierung des Blutverlusts bei Leberresektionen als entscheidenden Faktor für den Erfolg in der Leberchirurgie ist.

Bereits im Jahre 1908 beschrieb J.H.Pringle zum ersten Mal eine einfache und sichere Methode, durch digitale Kompression des Leberhilus, eine Blutstillung bei Leberverletzungen zu erreichen (Pringle 1908). Seitdem wurde dieses ebenso einfache wie grundlegende Verfahren verschiedentlich modifiziert und hat sich bis heute fest in der Leberchirurgie etabliert (Man 1997) (Belghiti 1999).

Dieses Verfahren, das üblicherweise als **Pringle – Manöver (PM)** bezeichnet wird und heute ein passageres Abklemmen der Arteria hepatica und Vena portae (klassisch mit Gallengang) mittels einer Gefäßklemme oder Tourniquet umfasst, minimiert so die Blutungsgefahr während der Parenchymdurchtrennung deutlich und verschafft dem Operateur eine übersichtlichere Exposition des zu resezierenden Areals. Andererseits verursacht es aber einen massiven Eingriff in die Makro – und Mikrozirkulation der Leber und induziert bei diesem Vorgehen eine zeitlich limitierte (warme) Ischämie.

Zusätzlich konnte gezeigt werden (Suc 1992) (Chien 1999), daß die Dauer der warmen Ischämie (Pringle-Zeit) in direktem Zusammenhang mit dem Grad der hepatozellulären Schädigung steht und beispielsweise am Anstieg der Leberenzyme, insbesondere der Transaminasen (GOT/GPT) sichtbar wird. Während frühere Meinungen davon ausgingen, dass irreversible Leberparenchymschäden bereits nach 15-30 Minuten auftreten, konnte in einigen Studien in Einzelfällen die Toleranz warmer Ischämiezeiten bei Leberresektionen von bis zu 2 Stunden beschrieben werden (Huguet 1994/1992). Trotz allem besteht kein

Zweifel daran, dass ausgedehntere Ischämiezeiten, durch das Pringle-Manöver verursacht, mit dem Ausmaß des hepatozellulären Schadens korrelieren.

Außerdem induziert die Wiederdurchblutung der Leber (Reperfusionphase) im Anschluß an die Ischämiephase, zusätzliche Schäden, die in ihrer Gesamtheit dann als " Ischämie – Reperfusionsschäden " bezeichnet werden (Flaherty 1988).

So läßt sich also feststellen, daß die Anwendung des Pringle-Manövers zwar einerseits den intraoperativen Blutverlust insbesondere während der Parenchymresektion vermindert, andererseits aber Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) der Leber verursacht, welche ihrerseits postoperative Komplikationen auslösen oder verstärken können. Dabei können die Leberzellschädigungen bis hin zur Leberdysfunktion oder gar zum Leberversagen führen.

Diese im klinischen Alltag nicht zu unterschätzende Gefahr hat die hepatobiliäre Chirurgie in der letzten Zeit herausgefordert, mögliche präventive oder protektive Konzepte zur Vermeidung von IRS zu verfolgen. Ziel ist dabei, z.B. durch Änderungen der operativen Vorgehensweise die Ischämietoleranz der Leber, insbesondere bei umfangreichen Resektionen, zu steigern und gleichzeitig das Ausmaß hepatozellulärer Schäden zu minimieren. Basierend auf den Erkenntnissen aus der experimentellen Chirurgie verfolgten vor allem zwei Arbeitsgruppen in den letzten Jahren hierzu erste klinische Ansätze: Belghiti et al (Belghiti 1999) konnten an ausgewählten Leberresektionspatienten zeigen, dass die Anwendung eines intermittierenden Pringle – Manövers, d.h. wiederholte Ischämie – Reperusionsphasen, den IRS des Lebergewebes reduzieren kann. Eine andere Arbeitsgruppe um Clavien et al (Rüdiger 2002) konnte diese Erkenntnisse und einige der zugrundeliegenden Mechanismen am Tiermodell bestätigen bzw. beschreiben.

1.2 Lebermorphologie

Die Leber erhält ihr Blut sowohl aus der A.hepatica als auch aus der V.portae, wobei die Oxygenierung zu etwa gleichen Teilen aus beiden Gefäßsystemen erfolgt. Hinsichtlich der Blutversorgung verteilt sich etwa drei Viertel auf die Pfortader und nur ein Viertel auf die

A. hepatica. Während unter physiologischen Bedingungen ein Sauerstoffanteil von ca. 40 % aus dem Blut extrahiert wird, kann sich der Sauerstoffanteil bei reduzierter Leberdurchblutung auf beinahe 100% steigern.

Das Netzwerk der Lebersinusoide ist hauptsächlich für die Durchblutungsregulation und Stoffaustauschprozesse verantwortlich (McCuskey 1993/2000). Dabei gelangt ein Großteil des Blutes über portale Venolen in die Sinusoide. Die portalen Venolen verfügen dabei über Sphinktermechanismen, die mit 'afferent' oder 'inlet sphincter' bezeichnet werden (McCuskey 1986/1966). Arteriell Blut erreicht die Sinusoide vor allem über Äste von hepatischen Arteriolen, die als Endarterien bezeichnet werden und im Lebersinusoid in der Nähe ihres Ursprungs von portalen Venolen enden. Zusätzlich scheint es direkte Verbindungen, sog. arterioportale Anastomosen mit portalen Endstromvenolen zu geben. Die Häufigkeit dieser arteriortalen Anastomosen scheint spezieabhängig zu sein. Da all diese genannten Strukturen unabhängig voneinander kontraktile sind, erhalten die Lebersinusoide eine wechselnde Mischung aus portalvenösem und arteriellem Blut (McCuskey 1986/1966). Welche Regulationsmechanismen die Kontraktion bzw. Relaxation der Sphinkter steuern, bleibt weiterhin Gegenstand experimenteller Forschung; es scheinen dabei allerdings die sog. Ito-Zellen eine wesentliche Rolle zu spielen (Kawada 1993) (Knook 1993).

Die *Lebersinusoide* sind also die Hauptlokalisierung für Austauschprozesse zwischen Blut und *Hepatozyten*. Alle Säugetiere verfügen dabei über den gleichen Aufbau: neben *Endothelzellen* und *Kupffer-Zellen (KC)* finden sich *perisinusoidale Zellen* (Wisse 1983/1977). Manche Gattungen verfügen über eine zusätzliche Zellpopulation, die als *Pit – Zellen* bezeichnet werden und denen die Aufgabe natürlicher Killerzellen zukommt (Kaneda 1983).

Die Leberparenchymzellen werden von den *Hepatozyten* gebildet. Diese sind für alle wesentlichen metabolischen Funktionen sowie für die Biotransformation und Galleproduktion verantwortlich. Die *Hepatozyten* stehen zum einen mit *Sinusoiden*, zum anderen mit den Gallenkanalikuli in Verbindung.

Die *Endothelzellen*, auch *Sinusendothel-Zellen (SEC)* genannt, bilden die Auskleidung der Sinusoide und verfügen über ein verdünntes Zytoplasma, das zahlreiche Poren, sog. Fenestrierungen aufweist. Diese Fenestrierungen beinhalten dynamische Strukturen, deren Durchmesser von Blutdruck, vasoaktiven Substanzen, Medikamenten und Giften abhängt (Fraser 1980/ McCuskey 1983). Dadurch wird z.B. der Durchtritt diverser Makromoleküle

ermöglicht. Zusätzlich ist eine intakte Auskleidung der Lebersinusoiden durch Sinusendothelzellen Voraussetzung für eine ungehinderte mikrovaskuläre Perfusion der Sinusoide. Eine Vielzahl pathophysiologischer Zustände, wie z. B. Ischämie-/Reperfusion kann die Integrität der SEC stören und konsekutiv z.B. zu einer aktivierten Gerinnung und Thrombosebildung führen (Vollmar 1994).

Die *Kupffer'schen Sternzellen* (*Kupffer-Zellen, KC*) stehen in engem Kontakt mit dem sinusoidalen Endothel und erreichen mit ihren cytoplasmatischen Ausläufern, den Pseudopodien, den Disse'schen Raum und die Leberparenchymzellen. Aufgrund ihrer Lokalisation und aufgrund ihrer großen Anzahl (Kupfferzellen repräsentieren mit einem Anteil von 70-80% den größten Pool ortsständiger Makrophagen im Körper) sind die Kupfferzellen die wichtigste Zellpopulation zur Abwehr von Mikroorganismen, aber auch von Tumorzellen, die vom Darm über die Pfortader in die Zirkulation gelangen (McCuskey 1984). Neben der Fähigkeit zur Phagozytose haben KC einen entscheidenden Anteil bei der Bildung und Freisetzung vasoaktiver Substanzen, insbesondere vasokonstriktorischer Substanzen (Prostaglandine und Leukotriene) (Lemasters 1995), die den sinusoidalen Blutfluß regulieren. Darüberhinaus produzieren aktivierte KC neben freien Sauerstoffradikalen (ROS) andere pro-inflammatorische Mediatoren wie Zytokine (TNF- α , IL-1, IL-6), Eicosanoide und "platelet activating factor (PAF)". Zusätzlich sind aktivierte KC an der Bildung leukozytärer Proteasen und Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B und Aktivator-Protein-1 (AP-1) in Endothelzellen und Hepatozyten beteiligt (Wanner 1996) (Bilzer 2000).

Nahezu alle, der eben erwähnten Mediatoren spielen bei der Entstehung von hepatischen IRS eine wichtige Rolle.

1.3 Pathomechanismen hepatischer Ischämie- Reperfusionsschäden (IRS)

Problematisch bei der Anwendung des Pringle- Manövers bei Leberresektionen ist die potenzielle Schädigung des verbleibenden Lebergewebes. Diese hepatozelluläre Verletzung wird einerseits durch die warme Ischämiephase (Pringle-Manöver) induziert, andererseits

durch die anschließende Reperfusionphase aggraviert. So konnte gezeigt werden, daß die pathophysiologischen Vorbedingungen für Reperfusionsschäden bereits während der Ischämiephase gebildet werden; allerdings erst in der postischämischen Reperfusionphase erlangen diese pathophysiologischen Abläufe an Bedeutung und initiieren ihrerseits biochemisch und morphologisch erkennbare Gewebeschäden (Ward 1988):

Die *Ischämiephase* ist u.a. gekennzeichnet durch eine Störung der mitochondrialen Atmungsabläufe (Gutierrez 1991). Folglich wurde eine intrazelluläre ATP-Depletierung beobachtet, die konsequenterweise zu einer massiven Beeinträchtigung aller ATP-abhängigen Stoffwechsel- und Transportprozesse führt (Rosser 1995). So kann während längerer Ischämiephasen die intrazelluläre Ionen-Homöostase, welche durch ATP-abhängige Ionen-Transportvorgänge reguliert wird, nicht aufrechterhalten werden. Die zytosolischen Natrium-, Kalzium- und Wasserstoffkonzentrationen steigen an, wobei der Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration maßgeblich bei der Entstehung des Zellödems verantwortlich ist. Es konnte gezeigt werden, dass insbesondere Hepatozyten durch warme (37 °C) Ischämie geschädigt werden. Dies ist vermutlich nicht ausschließlich Folge einer ATP-Depletierung (Noack 1993), sondern könnte womöglich auch durch die verstärkte Aktivierung nicht lysosomaler Proteasen erfolgen (Noack 1993). So könnten z.B. sogenannte Calpaine (Kalzium-verbrauchende Zystein-Proteasen) eine wichtige Rolle in ischämischen Hepatozyten spielen: Calpaine scheinen Zytoskelett-Proteine wie Spectrin zu schädigen, was in der Folge zur Zellnekrose führen kann (Saido 1994).

Reperfusionsschäden verstärken, wie bereits erwähnt, die Zellaktivierung und Zellschädigung, die bereits in der Ischämiephase induziert wurde. Reperfusionsschäden werden durch ein komplexes Netzwerk hepatischer und extrahepatischer Mechanismen verursacht (Bilzer 2000). Dabei spielen vor allem Kupffer-Zellen (KC) und deren Aktivierung in der frühen Reperfusionphase, d. h. in den ersten 2-3 h nach Reperfusion eine wichtige Rolle (Jaeschke 1991-b). In der späteren Reperfusionphase (>2h nach Reperfusionssbeginn) sind vor allem neutrophile Granulozyten (PMN) an der weiteren Ausbildung von Reperfusionsschäden beteiligt (Jaeschke 1996).

In tierexperimentellen Untersuchungen in der frühen Reperfusionphase, beschäftigten sich Jaeschke et al (Jaeschke 1991-c) vor allem mit der Hypothese, daß die KC durch die Bildung von freien Sauerstoffradikalen (ROS) maßgeblich an Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) der Leber beteiligt sind. Die maßgeblichen Ergebnisse dieser

Untersuchungen werden im Folgenden erläutert : Jaeschke et al (Jaeschke 1991- c) konzentrierte sich vor allem auf die *extrazelluläre* Radikalbildung während der Reperfusion ischämischer Lebern. Voruntersuchungen an isolierten Lebern zur *intrazellulären* Radikalbildung, konnten zeigen, daß *intrazellulär* nur geringe Mengen von Radikalen während der Reperfusionsphase gebildet werden (Jaeschke 1988), so daß der Focus weiterer Untersuchungen auf der extrazellulären ROS-Bildung, d.h. (im Plasma) lag. Als wesentliches Ergebnis konnte Jaeschke et al (Jaeschke 1991-c) anhand der Bestimmung von GSH und seiner oxidierten Form (GSSG) feststellen, daß erstens die *Plasma* GSSG-Konzentration während der Reperfusionsphase der Rattenleber signifikant zunahm und dabei die *intrazellulären* GSSG-Gehalte annähernd unverändert blieben. Zusätzlich konnte er zweitens zeigen, daß die *extrazellulären* GSSG-Konzentrationen postischämisch 9-27 mal so hoch waren wie in der präischämischen Phase. Die *extrazellulären* GSH-Konzentrationen hingegen erreichten postischämisch nur 3-6 mal so hohe Werte im Vergleich zur präischämischen Phase.

Diese Ergebnisse unterstreichen eindrucksvoll, daß die Oxidation von Plasma-GSH zu GSSG hauptsächlich durch eine *extrazelluläre* ROS-Elimination erfolgt, die während der Reperfusion v.a. in KC gebildet und freigesetzt werden. Die Beobachtung, daß sich durch KC-Depletion der Anstieg der postischämischen GSSG Plasma-Konzentration signifikant reduzieren läßt sowie I/R- Experimente, bei denen KC durch Retinol zusätzlich aktiviert wurden und dadurch die postischämische Plasma-GSSG Konzentration noch mehr zunahm, führt zu der Annahme einer *extrazellulären* ROS-Freisetzung als wesentlicher Pathomechanismus bei Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) der Leber. Brass et al (Brass 1995) konnte ebenfalls zeigen, dass aktivierte KC insbesondere in der frühen Reperfusionsphase die Hauptquelle für die ROS-Bildung sind. Ursachen, die zu einer verstärkten Aktivierung von KC führen können sind neben Hypoxiephasen, v.a. bakterielle Endotoxine (LPS) und die Komplementaktivierung (Ertel 1995) (Jaeschke 1993). Jüngste Untersuchungen von Liu et al (Liu 1995) und Schauer et al (Schauer 1999) konnten im Tierexperiment nachweisen, daß durch die Blockade von KC mittels Gadolinium-Chlorid die radikal-induzierten Lebergewebeschäden vermindert werden.

Allerdings muß berücksichtigt werden, dass die Entstehung von ROS ein normaler physiologischer Vorgang ist. Unter pathophysiologischen Voraussetzungen wie dies während der Reperfusionsphase der Leber der Fall ist, führt die große Freisetzung von ROS zu Gewebeschäden.

Dabei können ROS über verschiedene Mechanismen am Reperfusionsschaden beteiligt sein: zum einen können ROS hepatozelluläre Schäden durch direkte Zellschädigung verursachen. Außerdem können ROS als Signalmolekül fungieren und damit eine indirekte Schädigung von Leberparenchym und Nicht-Parenchymzellen bewirken (Bilzer 2000).

So führt z.B. die KC-Aktivierung und konsekutive ROS-Freisetzung charakteristischerweise zu hepatischen Mikrozirkulationsstörungen (Marzi 1993) (Schauer 1999). Experimentelle Untersuchungen der Leberperfusion am Tiermodell konnten z.B. zeigen (Vollmar 1994), daß während der Reperfusionsphase der Blutfluß in den Lebersinusoiden nicht die Ausgangswerte der prä-ischämischen Phase erreicht. Dabei spielen vermutlich mehrere Faktoren in der Reperfusionsphase eine Rolle: neben mikrovaskulärer Thrombosierung und Endothelzellödem konnten intravitalmikroskopische Analysen im postischämischen Gewebe zwei Reperfusions-induzierte Phänomene charakterisieren (Menger 1991). Zum einen spielt das „no-reflow-“ Phänomen eine Rolle, womit ein initiales Versagen der nutritiven Perfusion der mikrovaskulären Strombahn nach Freigabe der Organdurchblutung gemeint ist und zumindest zum Teil durch Verstopfungen der Gefäßbahn (Sinusoide) durch Thrombozyten und Leukozyten verursacht wird (Vollmar 1994) (Menger 1999); zum anderen spielt das sog. „reflow-paradox“ eine Rolle, bei dem trotz einer sinusoidalen Perfusion sekundäre Mikrozirkulationsstörungen im weiteren Verlauf zu beobachten sind. Verantwortlich hierfür scheint die anhaltende Freisetzung proinflammatorischer Zytokine z.B. (TNF- α , IL-1) und ROS aus KC und PMN zu sein (Menger 1999).

Zusätzlich scheinen ROS auch über Protein Kinasen die sinusoidale Perfusion zu beeinträchtigen, ein genauer Mechanismus ist allerdings noch unklar (Jaeschke 1997/1999).

Neueste histologische Untersuchungen zeigen, dass Apoptose-Vorgänge an der Ausbildung von hepatischen Reperfusionsschäden Anteil haben: dabei wurden vor allem Apoptose-Prozesse an Sinusendothelzellen und Hepatozyten beschrieben, die sich unmittelbar, nach vorausgegangener warmer Ischämie, in der Reperfusionsphase ausbildeten (Kohli 1999). Die Faktoren allerdings, die Apoptose-Prozesse im Rahmen von I/R initiieren könnten, sind derzeit noch in der Diskussion: möglich wären ROS (Motoyama 1998), TNF α (Zheng 1995), erhöhte zytosolische Calcium-Konzentrationen (Martikainen 1991) und eventuell die Aktivierung von Calpain-Proteasen (Squier 1994).

Es sei abschließend an dieser Stelle nochmals betont, daß Phasen warmer Ischämie, wie sie durch ein Pringle-Manöver verursacht werden, zu Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) der

Leber führen. Mit zunehmender Dauer der Ischämie korreliert dabei das Ausmaß des hepatozellulären Schadens (Vollmar 1994). Der Ischämie-Reperfusionsschaden (IRS) wird dabei im wesentlichen durch aktivierte Kupfferzellen und Leukozyten, Sauerstoffradikale (ROS) sowie durch Mikrozirkulationsstörungen verursacht.

1.4 Möglichkeiten zur Reduktion von hepatischen IRS

Zur Verringerung von Ischämie-Reperfusionsschäden sind verschiedene Therapieansätze denkbar: erstens könnten oxidative Zellschäden verringert werden und somit antioxidative Strategien während der Reperusionsphase eingesetzt werden (Jaeschke 1996). Zweitens könnte die Vermeidung von Mikrozirkulationsstörungen ein möglicher Therapieansatz sein. Letztlich wäre auch ein Verfahren, um den apoptotischen Zelluntergang zu vermeiden, denkbar. Bei all diesen Überlegungen scheinen vor allem antioxidative Substanzen für mögliche Therapieansätze von Interesse zu sein (Jaeschke 1991-a).

Um eine kosteneffiziente und nebenwirkungsarme antioxidative Therapie zu entwickeln, haben sich neuere Studien in vivo mit dem therapeutischen Einsatz von endogenem Glutathion (GSH) als Antioxidans befasst (Bilzer 1999). Während der Reperusionsphase werden freie Sauerstoffradikale (ROS) vor allem von Kupffer-Zellen (KC) gebildet. Folglich entsteht der oxidative Schaden vor allem im Extrazellularraum. Allerdings verfügt die Extrazellularflüssigkeit, wie z.B. das Blutplasma, nur über eine geringe antioxidative Kapazität, verglichen mit dem Intrazellularraum von Hepatozyten (Halliwell 1990). Dies verdeutlicht die niedrige GSH-Konzentration im Gefäßbett ($10\mu\text{M}$) im Gegensatz zu hohen GSH-Konzentrationen in Hepatozyten (10mM). GSH kann spontan mit Hydrogenperoxid, Hypochlorsäure und Monochloraminen reagieren, das von KC und Granulozyten gebildet wird (Bilzer 1991). Weitere Untersuchungen ließen vermuten, dass von den Hepatozyten freigesetztes GSH den Reperfusionsschaden in der Leber vermindern kann (Bilzer 1991/Jaeschke 1991-a). Diese Erkenntnisse könnten darauf hinweisen, dass die Erhöhung der GSH-Plasma-Konzentration während der Reperfusion ein protektiver Mechanismus

gegen KC-abhängige ROS-Bildung und hepatische Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) sein könnte (Schauer 2003).

So könnte die Gabe des Antioxidans GSH in naher Zukunft auch ein Therapieansatz im klinischen Alltag zur Verringerung von IRS bei Leberresektionen sein.

1.5 Ischämische Präkonditionierung (IPC)

Eine neuartige Methode zur Reduzierung von Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) beruht auf den Untersuchungen von Murry und Mitarbeitern (Murry et al 1985). Dabei konnte gezeigt werden, dass durch eine kurze, 'prä – ischämische' Ischämie-Reperfusionsphase das Ausmaß myokardialer Nekrosen nach längeren Ischämiephasen von Herzen deutlich reduziert werden kann. Diese sog. **ischämische Präkonditionierung (IPC)** wurde zunächst ganz allgemein als Steigerung der Toleranz des Myocardgewebes gegenüber Ischämiephasen interpretiert.

Inzwischen konnten diese Erkenntnisse auch an anderen Organen wie Skelettmuskel (Pang 1995), Gehirn (Glazier 1994), Spinalkanal (Sakurai 1998), Retina (Roth 1998) und Darm (Hotter 1996) nachgewiesen werden und werden als ubiquitäre Schutzmechanismen gegen wiederholte Schädigungsmechanismen von Zellen bzw. Zellsystemen angesehen. Auch in der Leber konnte vor allem tierexperimentell gezeigt werden, dass kurze (5-10 Minuten) Ischämie- und Reperfusionsphasen vor längerdauernder Ischämie hepatozelluläre Schäden nach warmer Ischämie vermindern kann (Lloris 1993 et Yin 1998 et Yadav 1999). Die zugrundeliegenden protektiven Mechanismen sind Gegenstand aktueller Forschungen. Dabei gibt es unterschiedliche Ansätze: Peralta et al (Peralta 1997) (Peralta 1999) vermuten Rezeptor abhängige Prozesse nach ischämischer Präkonditionierung (IPC), wobei insbesondere dem Adenosin und NO eine wichtige Bedeutung bei der Prävention vor hepatischen IRS zukommen könnten. In ihren tierexperimentellen Untersuchungen konnte Peralta et al zeigen, daß sowohl die Gabe von NO als auch von Adenosin vor hepatischer Ischämie-Reperfusion das Ausmaß hepatozellulärer Schäden vermindert und so den pro-

tektiven Mechanismus der IPC nachahmt. Dabei wird vermutet, daß bei präkonditionierten Tieren Adenosin die NO-Bildung induziert. Entsprechende Untersuchungen, welche die Adenosin- und NO-Synthese verhinderten, zeigten, daß hierdurch der protektive Effekt der IPC aufgehoben wird (Peralta 1997). Für die protektive Wirkung von NO scheint u.a. die Aktivierung der löslichen Guanyl-Zyklase und die anschließende Bildung des second messengers cyclo 3-5-Guanosin-Monophosphat (cGMP) eine wesentliche Bedeutung zu besitzen (Moncada 1993). In der Leber induziert cGMP eine langanhaltende verminderte Ansprechbarkeit der hepatischen Gefäße gegenüber α -adrenergen Substanzen und führt so zu einer verbesserten Mikrozirkulation (Bilzer 1995/1999). Weiterhin scheint cGMP auch die Resistenz der Leberzellen gegenüber ROS zu verstärken (Bilzer 1999).

Andere Hinweise zur Erklärung des protektiven Potentials der ischämischen Präkonditionierung (IPC) zeigen Untersuchungen, dass durch IPC Caspase-abhängige Apoptose-Vorgänge vermindert werden (Yadav 1999). Dabei wird den Caspasen eine wichtige Rolle bei Apoptose – Vorgängen zugeschrieben: Caspasen initiieren komplexe proteolytische Reaktionen, die den Zelltod zur Folge haben (Thornberry 1998).

Unter Umständen hat die Ischämische Präkonditionierung (IPC) auch einen günstigen Einfluß auf die postischämische Mikrozirkulation. Zapletal et al (Zapletal 1999) konnte am Tiermodell durch Intravital-Mikroskopie zeigen, daß Tiere, die mit IPC behandelt wurden, eine deutlich bessere Leberperfusionrate und eine geringere Leukozytenadhärenz in den Lebersinusoiden aufwiesen als Tiere, die ohne IPC behandelt wurden. Auch hier könnte vor allem NO und seine vasodilatierende Wirkung eine entscheidende Rolle spielen.

Schauer et al (Schauer 2003) konnte ebenfalls am Tiermodell zeigen, daß durch die Anwendung der IPC vor nachfolgender Ischämie-Reperfusion die Zahl der perfundierten Sinusoide nicht nur gesteigert werden kann, sondern auch die Werte nicht ischämischer Kontrollebern erreicht werden können (Menger 1991). All diese genannten Beobachtungen, die durch IPC die postischämische Mikrozirkulation günstig beeinflussen, könnten folglich den durch Ischämie/Reperfusion induzierten hepatozellulären Schaden minimieren.

Weitere Arbeiten zeigten zudem, daß es eine zusätzliche, verzögerte Protektion der Leber nach IPC gibt, wozu vermutlich die durch IPC vermehrte Expression von heat-shock Proteinen beiträgt (Kume 1996). Mögliche nachgeschaltete Mechanismen der Zellprotektion sind weitgehend unbekannt und müssen in folgenden Studien untersucht werden.

Zusammenfassend konnten verschiedene Arbeitsgruppen tierexperimentell nachweisen, daß die Anwendung der ischämischen Präkonditionierung (IPC) Ischämie-Reperfusionsschäden der Leber deutlich reduzieren kann. Ob diese Ansätze allerdings auch im klinischen Alltag d.h. bei Leberresektionen oder Lebertransplantationen anwendbar sind und Reperfusionsschäden durch IPC vermindert werden können, war der Ausgangspunkt für die vorliegende Arbeit.

2 Fragestellung

Nachdem sich das Konzept der ischämischen Präkonditionierung (IPC) als experimentell durchführbar und effektiv zur Verringerung von Reperfusionsschäden in der Leber herausstellte, sollten diese Erkenntnisse erstmals im Rahmen einer kontrollierten klinischen Studie auf ihre Durchführbarkeit und Effizienz untersucht werden:

1. Ist die IPC bei Leberresektionen gefahrlos für die Patienten durchführbar?
2. Führt die IPC zu einer Verringerung von hepatischen Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) nach Leberresektionen?
3. Welchen Einfluß hat die IPC auf IRS - bedingte Komplikationen (Morbidität/Mortalität)?
4. Können IPC induzierte protektive Mechanismen identifiziert werden?

3 Patienten und Methoden

3.1 Patientenselektion und Randomisierung

Während des Zeitraums von März 1999 bis August 2000 wurde bei 116 konsekutiven Patienten eine Leberresektion im Klinikum Großhadern durchgeführt. Der Großteil der Patienten wies eine maligne Tumorerkrankung, insbesondere kolorektale Metastasen auf. Bei den übrigen Patienten waren benigne Lebererkrankungen der Grund für einen chirurgischen Eingriff. Allerdings konnten nur 68 Patienten (58,6%) in die Studie miteinbezogen werden, bei den übrigen 48 Patienten gab es klar definierte Ausschlußgründe, die im Nachfolgenden erläutert werden:

Gründe, um nicht in die Randomisierung miteinbezogen zu werden waren:

- 1) Resektionsausmaß vermutlich weniger als ein Segment nach Couinaud (16 Pat.)
- 2) eine vermutlich erforderliche komplette Gefäßunterbrechung („total vascular exclusion“) von Hilus und Lebervenen (8 Pat.), z.B. aufgrund einer Tumorausdehnung bis zur V. cava ;
- 3) Geplante Erweiterung der Operation durch zusätzliche chirurgische Eingriffe wie die Anlage einer bilio – digestiven Anastomose oder zusätzliche gastrointestinale Operationen (3 Pat.) ,
- 4) laparoskopische Leberresektionen (10 Pat.) ,
- 5) bekannte Leberzirrhose (9 Pat.) , oder
- 6) die Durchführung eines Notfalleingriffs (2 Pat.).
- 7) Thorako – abdominaler Zugang (Zwei – Höhlen – Eingriff)

Einschluss-Kriterien waren ein Mindestalter von 18 Jahren, ein Höchstalter von 80 Jahren und das Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung des Patienten nach ausführlicher Aufklärung.

Die verbliebenen, am Vortag der Operation durch neutrale Personen randomisierten Patienten wurden entweder einer Leberresektion mit Pringle Manöver (n=31) oder einer Leberresektion mit IPC vor dem Pringle Manöver (n=30) unterzogen.

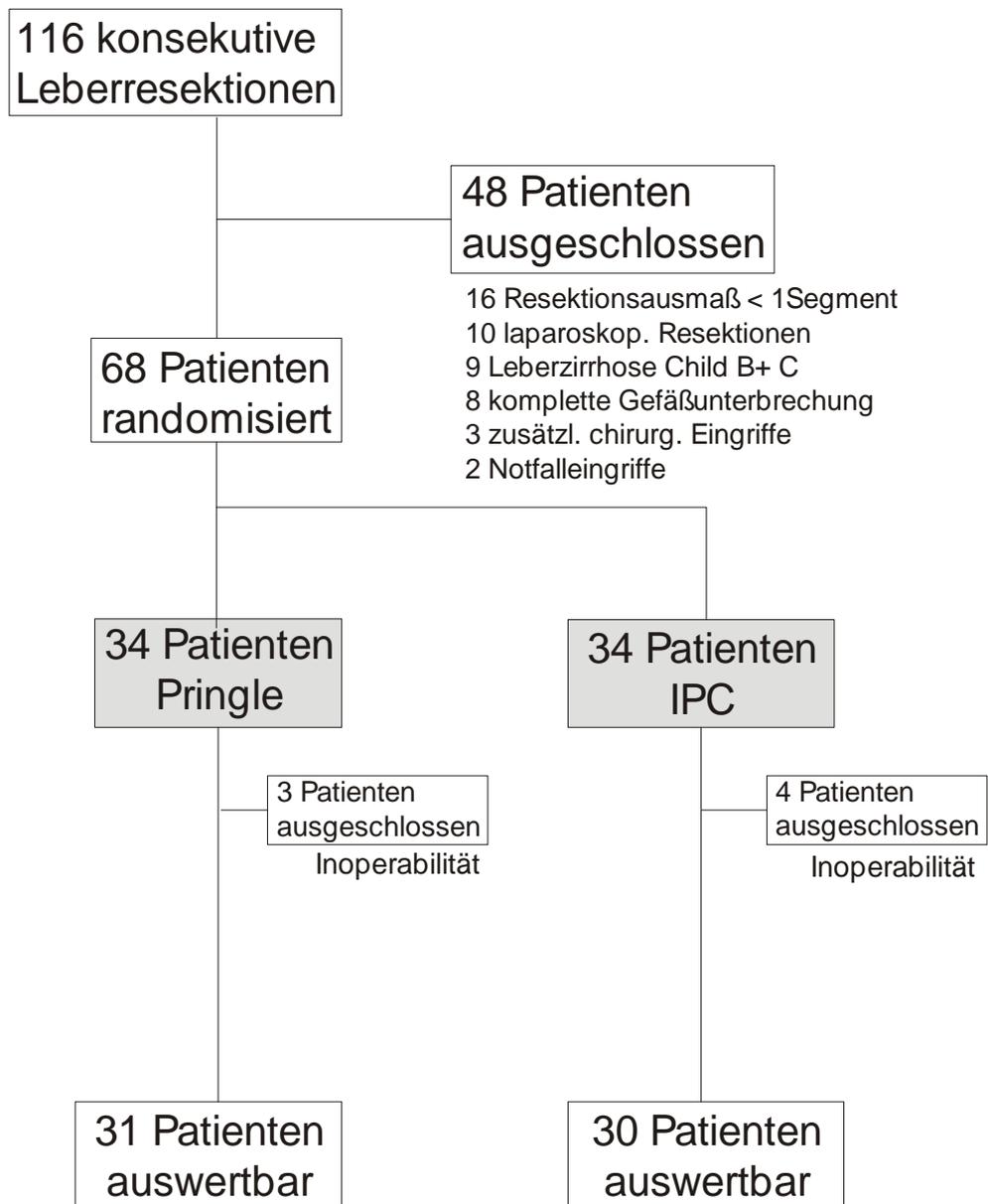


Abb. 2: Bei 7 Patienten wurde aufgrund des intraoperativen Situs und unter Zuhilfenahme der Sonographie, ein ausgedehnter Tumorbefall festgestellt, so dass keine Resektion durchgeführt wurde.

3.2 Studienprotokoll

Die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität hat die Studiendurchführung genehmigt.

Das Studienprotokoll der ischämischen Präkonditionierung (IPC) basiert auf verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen, bei denen auf eine Ischämiedauer von 10 Minuten durch Abklemmen des Leberhilus eine Reperfusionphase von 10 Minuten folgt. Im Anschluß daran folgt die längere Ischämie (Pringle Manöver). Dieses Vorgehen scheint die effektivste Maßnahme zur Verminderung von IRS im Lebergewebe zu sein, denn Peralta et al (Peralta 1998) konnten tierexperimentell nachweisen, daß für die Protektion durch IPC ein bestimmtes Zeitfenster existiert: Ischämieperioden, die kürzer als 10 Minuten oder länger als 15 Minuten (gefolgt von 10 Minuten Reperfusion) sind, zeigten hinsichtlich der hepatozellulären Schädigung keine protektiven Effekte mehr. Schauer et al (Schauer 2000) konnte diese Ergebnisse tierexperimentell bestätigen.

Die Durchführung der klinischen Untersuchung erfolgte im Rahmen einer prospektiv randomisierten Studie, die von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG SCHA 857/1-1/1-2) unterstützt wurde. Untersucht werden sollte dabei, ob die IPC bei Leberresektionen, bei denen eine temporäre Ischämie durch ein Pringle-Manöver durchgeführt wird, einen günstigen Einfluß auf die postoperative Morbidität und Mortalität hat und ob durch die IPC Reperfusionsschäden an der Restleber vermindert werden.

Nach schriftlicher Einverständniserklärung der Patienten zur Teilnahme an dieser Studie erfolgte die Randomisierung am Vortag mit Hilfe verschlossener Umschläge. Das weitere prä-, peri- und postoperative Management war in die klinische Routine integriert. Sowohl präoperativ als auch an Tag 1, 2 und 7 wurde Blut für verschiedene (Routine)-Laborparameter gewonnen. Neben der prospektiven Erhebung der Laborparameter erfolgte eine kontinuierliche Erfassung aller klinisch relevanten Parameter, die im Zusammenhang mit der Operation standen und umfaßten somit einen Zeitrahmen vom 1. präoperativen Tag bis zum 7. postoperativen Tag bzw. einen Zeitrahmen bis zur Entlassung/Verlegung oder bis zum Tod des Patienten.

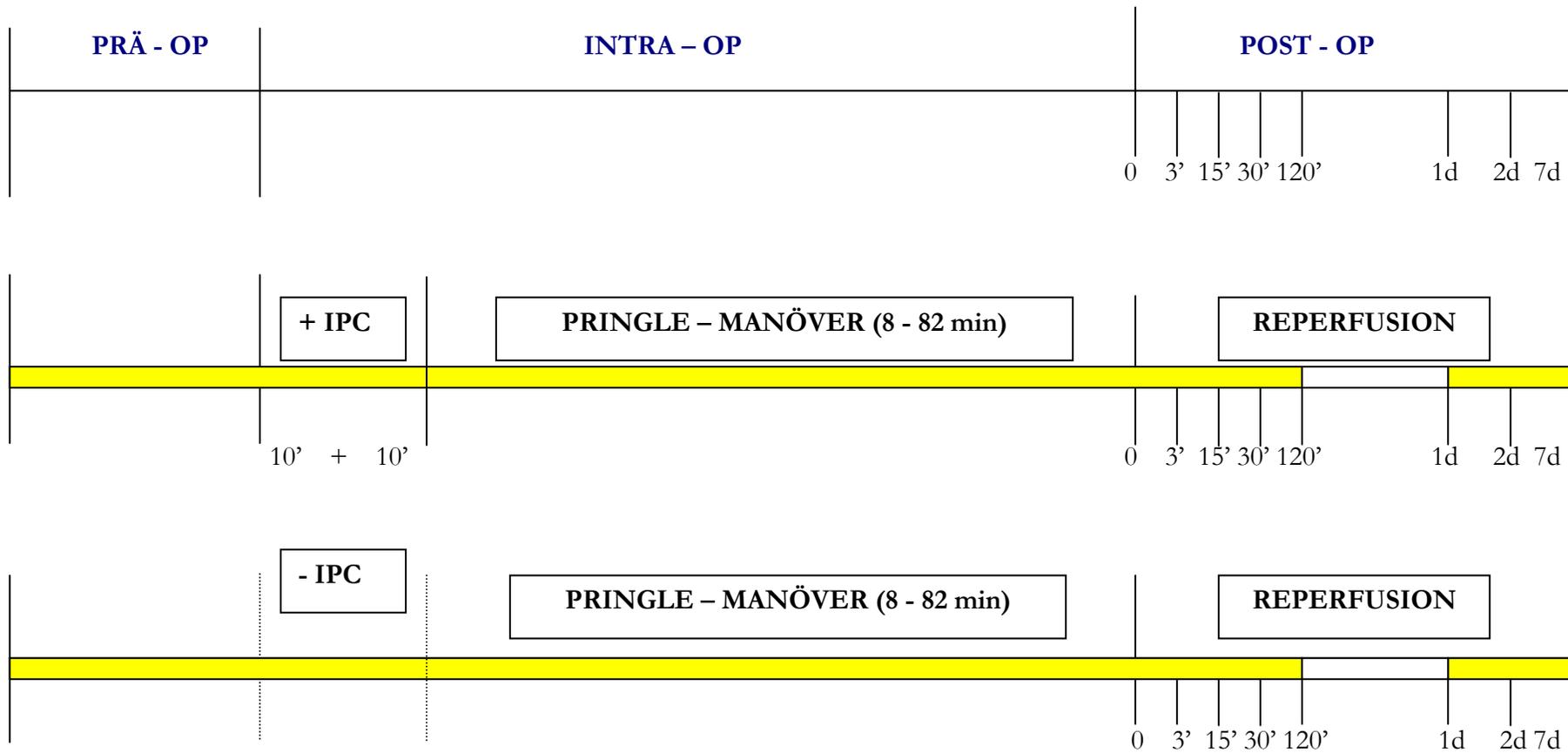


Abb. 3: Abnahmezeitpunkte der verschiedenen Blutproben abhängig von der Wahl des OP - Verfahrens

3.3 Perioperativer Ablauf

3.3.1 Anästhesie

Alle Operationen wurden in Allgemeinnarkose nach standardisierter Vorgehensweise durchgeführt : Zunächst erhielten die Patienten zur peri – und postoperativen Analgesie eine Epiduralanästhesie (Katheter) mit 0,5% Bupivacain. Die Narkose-Induktion erfolgte durch i.v. Gabe von Thiopental (5 mg/kg/KG), cis – Atracurium (0,5 mg/kg/KG) und Fentanyl (5µg/kg/KG). Die Narkose wurde durch das Inhalationsnarkotikum Desfluran (4-6 Vol %) unter kontrollierter Beatmung mit einem Luft -/ Sauerstoffgemisch von 50% aufrechterhalten. Die Körpertemperatur wurde durch Wärmemaßnahmen (Warm Touch, Wärmematte, erwärmte Infusionslösungen) konstant bei 36°C – 37°C aufrechterhalten. Intraoperative Blutverluste wurden primär durch Infusionen mit Kristalloiden, Kolloiden sowie durch autologe Transfusion (Cellsaver) kompensiert. Die Transfusion von Fremdblut hingegen erfolgte restriktiv in Abhängigkeit des Hämatokrit-Wertes (18-25%) und/oder des klinischen Zustandes des Patienten und wurde ausschließlich durch den Anästhesisten veranlaßt. Zusätzlich erfolgte eine automatisierte ST-Strecken-Analyse, so daß bei drohender Gefahr einer Myokardischämie die Gabe von Fremdblut durch den Anästhesisten veranlaßt wurde. Blutplasma-Produkte (*fresh frozen plasma*, Gerinnungsfaktoren) oder Thrombozytenkonzentrate waren nur bei großen Blutverlusten (>5000 ml) bzw. schwerer Gerinnungsstörungen i. S. einer Koagulopathie notwendig.

Die Kreislaufverhältnisse wurden während der Resektion konstant gehalten (z.B. ZVD ~ 10 mmHg bei einem PEEP von +5 mmHg)

3.3.2 Operatives Vorgehen

Bei allen Patienten wurde als operativer Zugang ein rechtwinkliger Hautschnitt im rechten Oberbauch gewählt. Nach sorgfältiger Präparation wurde die Leber in der Regel vollständig mobilisiert, so dass der Zugang zur V.cava von rechts lateral her möglich war und so die

Isolierung einzelner Lebervenen ermöglichte. Alle Eingriffe beinhalteten die Präparation des Ligamentum hepatodoudenale, so dass A. hepatica und V.portae isoliert dargestellt und angeschlossen werden konnten. In der Kontroll-Gruppe (Pringle-Manöver) erfolgte die globale Leberischämie durch gemeinsames Abklemmen des Hauptstammes der A.hepatica sowie der V.portae unter Zuhilfenahme einer geraden Gefäßklemme. In der IPC-Gruppe wurden zur Präkonditionierung analog A.hepatica und V.portae für 10 Minuten abgeklemmt. Die folgende Reperfusionphase dauerte ebenfalls 10 Minuten, in denen keine weiteren operativen Maßnahmen durchgeführt wurden. Direkt im Anschluß an diese 10-minütige Reperfusionphase erfolgten das Pringle-Manöver wie oben beschrieben und der Beginn der Parenchymdurchtrennung. Falls akzessorische Gefäße, insbesondere eine häufig anzutreffende, akzessorische linke oder rechte Leberarterie vorzufinden waren, wurden diese bei der Durchführung der IPC bzw. des Pringle-Manövers berücksichtigt. Die Gesamtdauer des Pringle-Manövers lag im Ermessen des Operateurs und wurde in der Regel so lange durchgeführt, bis die Parenchym-Durchtrennung und die initiale Blutstillung abgeschlossen waren. Zur Dissektion des Leberparenchyms wurde einheitlich ein Wasser-Jet (Saphir Medical, Lyon Frankreich) verwendet. Blutungen kleinerer Gefäße bzw. Gallengänge wurden unter Zuhilfenahme von Einmal-Clips versorgt, größere Gefäße bzw. Gallengänge erforderten monofile Durchstechungsligaturen. Abschließend wurde die Resektionsfläche mit dem Argon-Beamer koaguliert und mit Kollagenvlies versorgt. Die Bestimmung des Resektionsvolumens ließ sich in einem Überlaufgefäß durchführen. Die Operationen wurden von vier erfahrenen Chirurgen durchgeführt.

3.3.3 Postoperativer Verlauf

Bei jedem Patienten der einzelnen Studiengruppe wurden während des gesamten postoperativen Verlaufs, der sich bis zur Entlassung/Verlegung oder bis zum Tod des Patienten erstreckt, alle klinisch relevanten Parameter, die im Zusammenhang mit dem operativen Eingriff standen, prospektiv erhoben.

3.4 Zielparameter

Hauptzielgrößen bei dieser Arbeit war das Auftreten von peri – und postoperativen Komplikationen bis zum Ende des stationären Aufenthalts, d.h. Entlassung/Verlegung oder Tod des Patienten:

In der Literatur gibt es keine allgemeingültigen Definitionen für postoperative Leberfunktionsstörungen. In der vorliegenden Arbeit beinhaltete eine **schwere (reversible) Leberfunktionsstörung** im Anschluß an eine Operation folgende Kriterien:

- 1) die Bilirubin-Konzentration war postoperativ >5 mg/dl *oder*
- 2) die Prothrombin-Aktivität (Quick-Wert) war $<40\%$ und dies für eine Dauer von mindestens 3 postoperativen Tagen.

Das **nicht reversible Leberversagen** wurde als Tod aufgrund unzureichender Leberfunktion definiert, nachdem zunächst andere potentielle Ursachen wie (z.B. Sepsis) ausgeschlossen wurden. So war das postoperative, letale Leberversagen durch

- 1) eine massiv eingeschränkte Blutgerinnung
- 2) einen anhaltenden Bilirubin-Anstieg und
- 3) zerebrale Komplikationen in Form von hepatischer Enzephalopathie/Koma gekennzeichnet.

Zusätzlich wurden die Gallengangs-Komplikationen unterteilt in schwere Gallengangs-Komplikationen, die eine Intervention oder Re-Operation nötig machte und in eine leichte Form, wenn die Gallesekretion spontan über die Drainagen sistierte.

Daneben wurden sämtliche, übrigen Komplikationen postoperativ dokumentiert.

Nebenzielgrößen waren der intraoperative Blutverlust sowie die Serumkonzentrationen der Transaminasen (GPT/GOT), Bilirubin und Prothrombin-Aktivität in den ersten 7 postoperativen Tagen. Zusätzlich erfolgte die Bestimmung des Antioxidans Glutathion im Plasma in reduzierter bzw. oxidiert Form, sowie die Bestimmung der Abbauprodukte des Adeninnukleotid-Stoffwechsels.

Um Aussagen zur Leberperfusion zu erhalten, wurden intraoperativ Flowmessungen der Pfortader und der A. hepatica zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt.

3.5 Bestimmungen

3.5.1 Postoperativer Leberschaden

Zur Bestimmung der postoperativen hepatozellulären Schäden und der Leberfunktion wurden verschiedene Laborparameter bestimmt: Aussagen über die **Integrität der Leberzellen** wurden über den Anstieg der Serumaktivitäten der Transaminasen (GPT/GOT) gemacht. Zur Beurteilung der **Syntheseleistung** diente die Prothrombin – Aktivität (Quick-Wert), die **Exkretionsleistung** wurde anhand des Serum - Bilirubin – Wertes beurteilt. Die Bestimmung der oben aufgeführten Parameter erfolgte mittels Routine-Analysegeräten im Institut für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern.

3.5.2 Intraoperative Flowmessungen

Die Quantifizierung der Leberperfusion (ml/min.) an Arterie und Pfortader erfolgte mit Hilfe von Flow-Sonden (Firma Medi-Stim, Deisenhofen, Deutschland). Um Aussagen zur Leberperfusion in Abhängigkeit des gewählten Operationsverfahrens (Ischämische Präkonditionierung (IPC) vs. Pringle-Manöver (PM)) zu erhalten, erfolgte in der **IPC-Gruppe** eine Flowmessung vor Anwendung der IPC (Ausgangswert) sowie eine erneute Flowmessung 15 Minuten nach Reperfusion der Restleber. In der **PR-Gruppe** erfolgte eine Flowmessung vor Anwendung des PM (Ausgangswert) sowie eine erneute Flowmessung ebenfalls 15 Minuten nach Reperfusion des Restlebergewebes.

3.5.3 Histologische Untersuchungen

Die histologische Aufarbeitung erfolgte als Routine – Untersuchung im Institut für Pathologie der LMU München, Klinikum Großhadern. Untersucht wurde dabei in tumorfreien Abschnitten im Wesentlichen der Fibrosegrad (semiquantitativ) sowie der Verfettungsgrad.

3.5.4 Bestimmung des Antioxidans Glutathion

Bei je 5 Patienten der IPC – Gruppe und 5 Patienten der Kontroll – (PR -) Gruppe wurden die Konzentrationen des Antioxidans Glutathion in reduzierter (GSH) bzw. oxidiertes (GSSG – Form) bestimmt. Nach Abnahme von 1 ml Patientenblut zu allen Abnahmezeitpunkten, wurde jeweils 0,5 ml Blut in vorbereitete Eppendorf-Gefäße gegeben. Um eine schnelle Autooxidation des GSH zu GSSG zu verhindern wurde dem Blut unmittelbar nach Entnahme N-Ethylmaleimid (NEM) zugegeben. GSH und NEM reagieren zu einem Konjugat, so dass GSH gebunden und damit stabil vorliegt. Zusätzlich wurden die Proben, um einen relevanten GSH-Austritt aus den Erythrozyten zu verhindern, umgehend zentrifugiert, der entstehende Überstand abpipettiert und bei – 80 °C aufbewahrt. Die Bestimmung der GSSG-Konzentrationen beruht auf folgender Reaktion: GSH wird mit Hilfe von 5,5´ Dithiobis(nitrobenzoesäure) (DTNB) nichtenzymatisch reduziert. Das bei dieser Reaktion entstandene GSSG wurde enzymatisch durch die Glutathion-Reduktase (GR) reduziert, so daß die Reaktionsgeschwindigkeit der DTNB-Reduktion konstant blieb. Auch hier wurde nach erfolgter Zentrifugation der jeweilige Plasmaüberstand in dafür vorbereitete Eppendorf-Gefäße sorgfältig abpipettiert, bei – 80 °C aufbewahrt und anschließend per Gaschromatograph bestimmt. Diese Bestimmungen dienen zur Beantwortung der Frage, inwieweit die Ischämische Präkonditionierung (IPC) einen Einfluß auf die postischämische GSH/GSSG-Homöostase und damit auf die antioxidative Kapazität hat.

3.6 Statistik

Sämtliche Auswertungen wurden mit Hilfe des Programms SPSS 10.0 (SPSS, Chicago, USA) durchgeführt. Numerische Werte wurden als Mittelwert und Standardabweichung ($MW \pm SD$) angegeben. Der Vergleich zwischen zwei Gruppen erfolgte Parameter-unabhängig mit Mann-Whitney U Test, Chi-Quadrat Test oder dem exakten Fisher Test. Prädiktive Faktoren wurden mit Hilfe der linearen Regression bestimmt, die Multivarianzanalyse der

Komplikationen erforderte eine logistische Regression. Alle berücksichtigten Faktoren wurden bei den Multivarianz-Analysen auf gegenseitige Abhängigkeit getestet. P-Werte < 0.05 wurden als statistisch signifikant erachtet.

4 Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristik und Operationsverfahren

Zahlreiche Experimente am Tiermodell ließen vermuten, dass die ischämische Präkonditionierung der Leber zu einer Verringerung der I/R- vermittelten Schäden verwendet werden könnte. So wurden zwei Patientengruppen durch ein prospektives Studienprotokoll mit Randomisierung gebildet: bei der ersten Patientengruppe (Kontrollgruppe) erfolgte die Leberresektion unter temporärer, kontinuierlicher Ischämie der gesamten Leber (Pringle Manöver), während bei der anderen Patientengruppe dem Pringle Manöver eine IPC mit 10 minütiger Ischämie und anschließender 10 minütiger Reperfusionphase des gesamten Organs vorausging.

Zwischen den beiden Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich demographischer Daten, zugrundeliegender Erkrankung, intraoperativer Parameter oder der fibrotischen bzw. steatotischen Vorschädigung des nicht-tumorösen Lebergewebes (Tab.1)

Tab. 1 : Patientencharakteristik

Variable	Pringle (n=31)	Pringle+IPC (n=30)	P-Wert
Alter (Range)	55±13 (28-77)	57±14 (26-80)	0.61
Geschlecht (Männlich/Weiblich)	19/12	18/12	0.92
Dignität (Maligne/Benigne)	28/3	26/4	0.65
Fibrosegrad			0.39
Keine	12	10	
Gering (≤10%)	14	15	
Mäßig (≤40%)	5	5	
Verfettungsgrad			0.39
Kein	12	10	
Gering (≤25%)	14	15	
Mäßig (≤50%)	5	5	
Schwer (≥50%)			
Operationszeit (Min.)			
Mittelwert	271±58	260±63	0.36
Range	180-420	170-420	
Pringlezeit (Min.)			
Mittelwert	33±12	34±14	0.70
Range	8 – 67	15 – 82	

Auch hinsichtlich der präoperativ erhobenen allgemeinen und spezifischen Laborparameter lagen keine signifikanten Unterschiede vor (Tab. 2)

Tab.2 : Präoperative Laborparameter

Variable	Pringle (n=31)	Pringle+IPC (n=30)	P-Wert
Na ⁺ (mmol/l)	139	139	0,79
Range (mmol/l)	131-145	133-144	
K ⁺ (mmol/l)	4,3	4,4	0,86
Range (mmol/l)	3,5-4,9	3,5-5,9	
Krea (mg/dl)	0,96	0,95	0,73
Range (mg/dl)	0,66-1,44	0,68-1,5	
Harnstoff (mg/dl)	29	31	0,47
Range (mg/dl)	15-56	11-74	
Bilirubin ges. (mg/dl)	0,6	0,6	0,83
Range (mg/dl)	0,2-1,54	0,2-4,6	
AP (U/l)	192	227	0,83
Range (U/l)	70-1142	70-630	
Gamma-GT (U/l)	74	101	0,03
Range (U/l)	12-619	7-264	
GPT (U/l)	19	35	0,89
Range (U/l)	9-54	8-95	
GOT (U/l)	17	24	0,65
Range (U/l)	6-67	8-95	
PchE (U/l)	5340	5122	0,99
Range (U/l)	2452-8420	3378-7922	

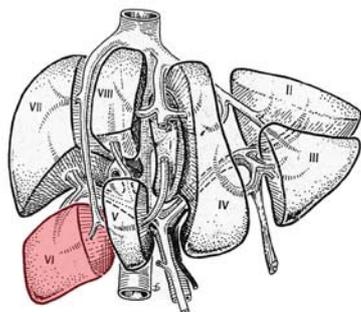
Albumin (g/dl)	4,6	4,6	0,75
Range (g/dl)	3,7-5,2	4-4,8	
Quick (%)	95	92	0,76
Range	75-120	70-100	
Hämoglobin (g/dl)	14,3	13,9	0,76
Range (g/dl)	9,3-17,8	9,7-16,7	
Faktor V (%)	114	110	0,79
Range	75-169	68-151	

Tab.3: Durchgeführte Resektionen

Variable	Pringle (n=31)	Pringle+IPC (n=30)
Segmentresektion	n=4	n=4
Bisegmentresektion	n=11	n=13
Trisegmentektomie	n=7	n=4
Hemihepatektomie rechts	n=2	n=1
Erweiterte Hemihepatektomie rechts	n=2	n=4
Hemihepatektomie links	n=2	n=1
Erweiterte Hemihepatektomie links	n=3	n=3

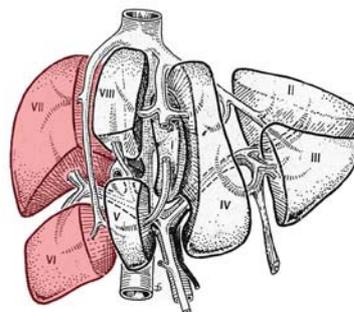
Die folgenden Abbildungen stellen jeweils exemplarisch verschiedene Resektionsverfahren mit der entsprechenden Terminologie des Resektionsausmaßes dar.

1-Segmentresektion



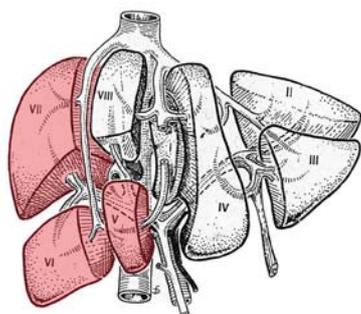
Dargestellt ist eine 1 – Segmentresektion, wie sie bei jeweils 4 Pat. in der PR-Gruppe und bei 4 Pat. der IPC-Gruppe durchgeführt wurde. Hier ist exemplarisch eine Resektion des Segmentes VI der Leber dargestellt.

Bisegmentresektion



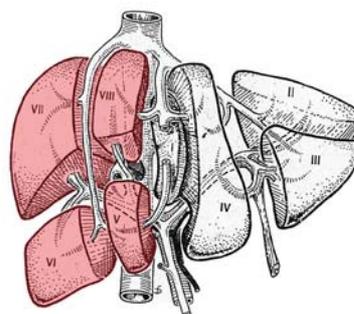
Dargestellt ist eine Bisegmentresektion, wie sie bei jeweils 11 Pat. der PR-Gruppe und bei 13 Pat. der IPC-Gruppe durchgeführt wurde. Hier ist eine laterale Sektorektomie dargestellt.

Trisegmentektomie



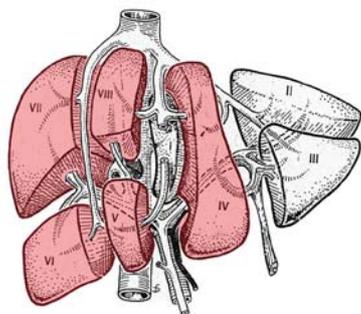
Dargestellt ist eine Trisegmentektomie, wie sie bei jeweils 7 Pat. der PR-Gruppe und 4 Pat. der IPC-Gruppe durchgeführt wurde. Zu beachten ist dabei, daß bei dieser Operation eine große Resektionsfläche entsteht.

Hemihepatektomie rechts



Dargestellt ist eine Hemihepatektomie rechts, wie sie bei jeweils 2 Pat. der PR-Gruppe und 1 Pat. der IPC-Gruppe durchgeführt wurde.

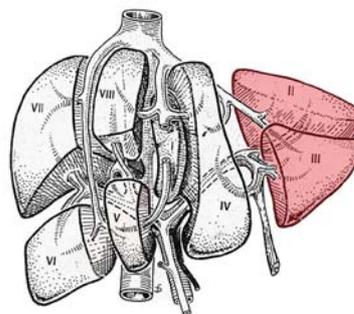
Erweiterte Hemihepatektomie rechts



Dargestellt ist eine erweiterte Hemihepatektomie rechts, wie sie bei jeweils 2 Pat. der PR-Gruppe und 4 Pat. der IPC-Gruppe durchgeführt wurde.

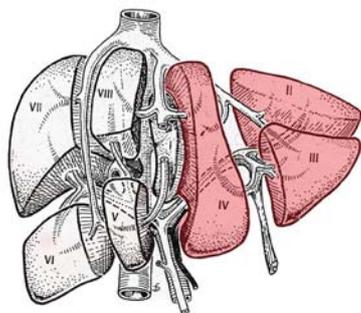
Es verbleibt dabei eine sehr kleine Restleber und die mittlere Lebervene muß mitreseziert werden.

Lobektomie links



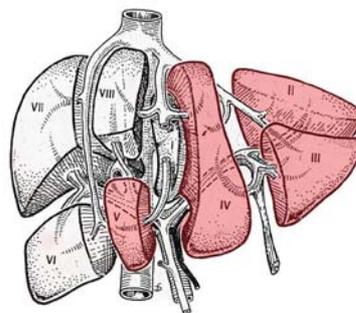
Die dargestellte Lobektomie links wird auch als linkslaterale Sektorektomie bezeichnet.

Hemihepatektomie links



Dargestellt ist eine Hemihepatektomie links, wie sie bei jeweils 2 Pat. der PR-Gruppe und 1 Pat. der IPC-Gruppe durchgeführt wurde.

Erweiterte Hemihepatektomie li.



Dargestellt ist eine erweiterte Hemihepatektomie links, wie sie bei 3 Pat. der PR-Gruppe und bei 3 Pat. der IPC-Gruppe durchgeführt wurde.

4.1.1 Intraoperative Parameter

Der intraoperative Blutverlust war in der Gruppe ischämisch präkonditionierter Patienten signifikant geringer (1280 ± 910 ml in der IPC-Gruppe) vs. (1940 ± 760 ml in der PR-Gruppe) ($p < 0.01$). Folglich war die Notwendigkeit für autologe Blutkonserven nur bei 17 % der ischämisch präkonditionierten Patienten gegeben, wohingegen bei 48% der Patienten in der Kontrollgruppe Bluttransfusionen erforderlich waren. ($p < 0.01$) (s. Tabelle 4).

Tab 4.: Darstellung des intraoperativen Blutverlustes sowie der Anzahl benötigter Blutkonserven

Variable	Pringle (n=31)	Pringle+IPC (n=30)	p-Wert
Intraoperativer Blutverlust(ml)			
Mittelwert	1940 ± 760	1280 ± 910	0.001
Range	375 – 3375	260 – 5250	
Anzahl der Patienten mit Bluttransfusionen in %	15 (48)	5 (17)	0.006
Anzahl der Blutkonserven			
Mittelwert	0.90 ± 1.24	0.47 ± 1.31	0.014
Range	0 – 5	0 – 6	

4.1.2 Leberperfusion

Mit Hilfe von Flow- Sonden wurde die Leberperfusion zu unterschiedlichen Zeitpunkten untersucht, um mögliche Effekte der IPC auf die Makrozirkulation der Leber nachzuweisen.

Tab. 5 : Darstellung der Leberperfusion (MW±SEM)

	Untersuchtes Gefäß	Flow vor Ischämie (ml/min)	Flow nach Reperfusion (ml/min)	Flow - Änderung (ml/min)	Relative Flow- Änderung (%)	p-Wert
Pringle- Manöver	A. hepatica	292±70	270±64	22±70	+ 3	n. s.
	Pfortader	1123±130	762±120	360±90	- 29	p<0,01
Ischämische Präkonditionierung	A.hepatica	166±19	180±28	14±26	+ 32	p<0,01
	Pfortader	730±74	656±75	160±46	- 9	n. s.

Die obigen Ergebnisse zeigen, dass bei Durchführung eines Pringle-Manövers (PM) bei Leberteilresektionen während der Reperfusionsphase die Pfortaderperfusion um nahezu 30% abnimmt, wohingegen der arterielle Flow etwa unverändert bleibt.

Im Gegensatz dazu zeigt die Durchführung der ischämischen Präkonditionierung (IPC) vor dem Pringle- Manöver (PM) eine dramatische Steigerung der arteriellen Perfusion während der Reperfusion um ca. 30%, wobei gleichzeitig eine nur minimal eingeschränkte Pfortaderperfusion zu beobachten ist. Diese Ergebnisse unterstreichen damit eindrucksvoll einen günstigen Einfluß der IPC auf die Makroperfusion der Leber.

4.2 Postoperativer Verlauf

Von 30 Patienten der ischämisch präkonditionierten Gruppe hatten 24 einen komplikationslosen Verlauf (80%), in der Kontrollgruppe waren es dagegen nur 17/31 Patienten (55%) ($p < 0.05$) (s. Tabelle 6).

Tab. 6: Darstellung relevanter postoperativer Komplikationen

Variable	Pringle (n=31)	Pringle+IPC (n=30)	p-Wert
Postoperative Komplikationen – Anzahl(%)			
Gesamt	14 (45)	6 (20)	0.04
Leberversagen	2 (6)	0 (0)	
Schwere Leberdysfunktion	2 (6)	1 (3)	
Galleleckage (Gesamt)	6 (19)	3 (10)	
Schweres Galleleck	2 *	1	
Leichtes Galleleck	4	2	
Andere Komplikationen	4 (13)	2 † (7)	
Intensivaufenthalt – Tagen			
Mittelwert	2.68±5.57	2.43±3.70	0.43
Range	0 – 25	0 – 16	

* beinhaltet Re-Operationen

† beinhaltet einen Todesfall

Zwei Patienten der Kontrollgruppe verstarben aufgrund eines progressiven Leberversagens am 12. bzw. 25. postoperativen Tag. Der Patient, der am 12. postoperativen Tag verstarb, entwickelte im Anschluß an die Leberresektion eine hepatische Insuffizienz mit Laktanstiegen bis auf 20 mmol/l sowie einem Gerinnungsversagen und massivem Transaminasenanstieg. Eine durchgeführte Farddoppler-Sonographie erbrachte keinen Hinweis für einen Gefäßverschluß. Am 2. postoperativen Tag wurde eine Second-look-Laparotomie durchgeführt, wobei sich der Leberstatus morphologisch unauffällig darstellte. Der Patient

verstarb allerdings im Folgenden an einem septischen Krankheitsbild bei vollständigem Gerinnungsversagen auf dem Boden eines nicht-reversiblen Leberversagens. Die Patientin, die am 25. postoperativen Tag verstarb, entwickelte am 2. postoperativen Tag eine Pfortaderthrombose. Es erfolgte umgehend die operative Thrombektomie. Zusätzlich zeigte sich intraoperativ eine Einengung und Marzerierung des Ductus choledochus, so daß in gleicher Sitzung eine biliodigestive Anastomose durchgeführt wurde. Im weiteren postoperativen Verlauf entwickelte die Patientin zusätzlich eine Candida-Sepsis mit Gerinnungs- und Nierenversagen. Unter dem Verdacht einer abdominellen Sepsis wurde am 16. postoperativen Tag eine explorative Laparotomie durchgeführt. Intraoperativ zeigte sich weder ein Verhalt noch eine Insuffizienz. Bei persistierendem Candidabefall des Abdomens und trotz maximaler intensivmedizinischer Maßnahmen verstarb die Patientin im septischen Schock.

Die folgende Abbildung zeigt den postoperativen Verlauf der Transaminasen (GPT) und der Bilirubin-Werte der beiden Patienten (p1 und p2) der Kontrollgruppe, die ein fulminantes Leberversagen mit letalem Ausgang entwickelten. Während am 7. postoperativen Tag eine vorübergehende Normalisierung der Laborwerte zu beobachten ist, steigen beide Laborparameter in der Folge kontinuierlich an. Insbesondere die deutlich pathologischen Bilirubin-Konzentrationen beider Patienten bestätigen die Ausbildung des Leberversagens.

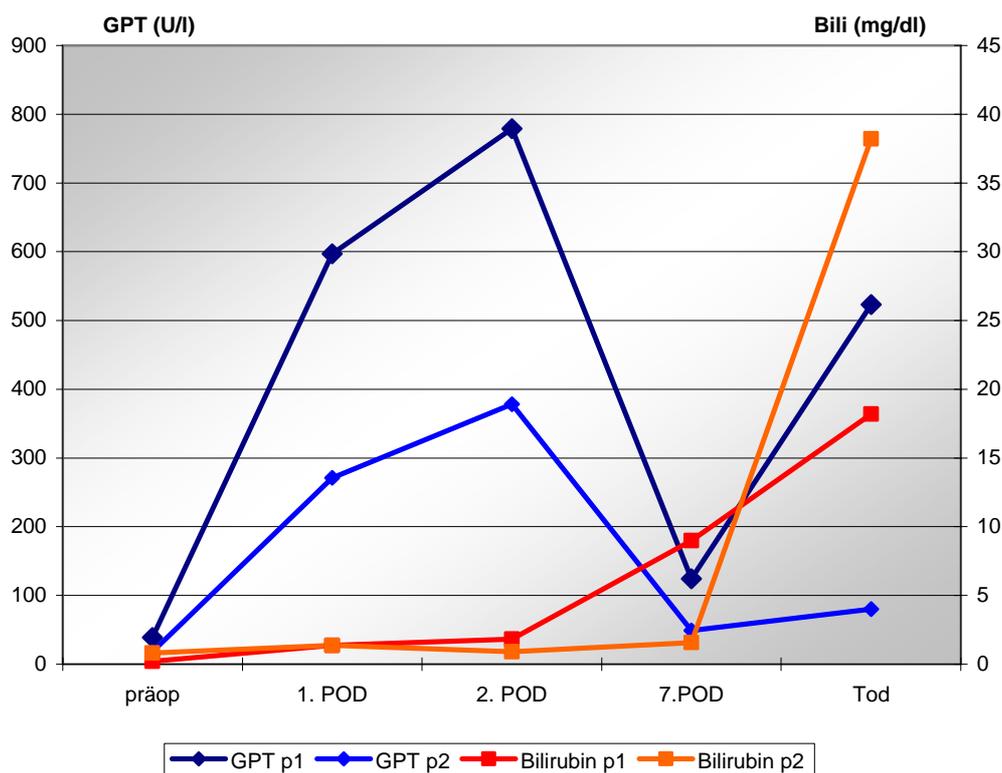


Abb. 4: GPT- und Bilirubin-Verlauf der beiden verstorbenen Patienten (p1 und p2)

Der postoperative Verlauf der Quick-Werte für die beiden verstorbenen Patienten der Kontrollgruppe im Vergleich zum Gesamtkollektiv ist in Abbildung 5 dargestellt. Dabei fällt auf, daß die Quick-Konzentrationen beider verstorbenen Patienten (p1 und p2) prä-Op als auch post-Op (1.POD/2.POD/7.POD) deutlich außerhalb des Gesamtkollektivs (PR und IPC) liegen. Dies zeigt sich am eindrucksvollsten am 7. postoperativen (7.POD) Tag. Die Quick-Werte des Gesamtkollektivs erreichen zu diesem Zeitpunkt ungefähr die präoperativen Ausgangswerte. Die Quick-Werte der beiden verstorbenen Patienten zeigen dagegen keine Normalisierung auf präoperative Ausgangswerte. Der weitere Abfall der Quick-Werte beider Patienten unterstreicht eindrucksvoll die Progression der Gerinnungsstörung und damit die Ausbildung des Leberversagens.

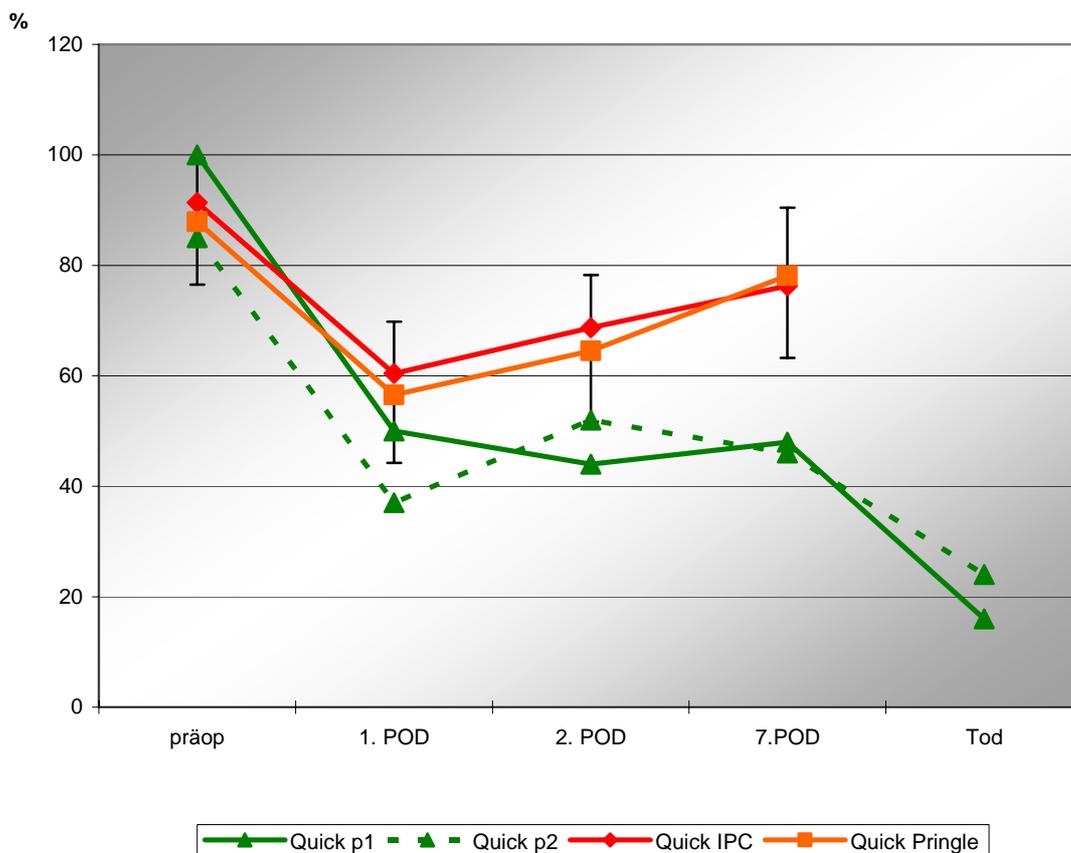


Abb. 5: Quick -Verläufe der beiden verstorbenen Patienten im Vgl. zum Gesamtkollektiv

Eine schwere, aber reversible Leberdysfunktion, wie weiter oben definiert, konnte bei zwei Patienten der Kontrollgruppe aber nur bei einem Patienten in der präkonditionierten Gruppe beobachtet werden (s. Tabelle 5). Allerdings normalisierte sich diese vorübergehende Leberdysfunktion in allen drei Fällen im weiteren postoperativen Verlauf. Zusätzliche, mit der Leberdysfunktion möglicherweise in Zusammenhang stehende Komplikationen konnten nicht beobachtet werden.

Eine weitere Gruppe wichtiger postoperativer Komplikationen nach Leberresektion umfasst die Gruppe der Galleckagen. Um die biliären Komplikationen klassifizieren zu können, wurde in der vorliegenden Arbeit zwischen schwerer und leichter Galleckage unterschieden.

Bei beiden Patienten mit schwerwiegenden Gallecks in der Kontrollgruppe war aufgrund massiver Gallesekretion aus einem wahrscheinlich verletzten intrahepatischen Gang, eine erneute Operation mit Anlage einer biliodigestiven Anastomose erforderlich. Ein Patient

aus der Gruppe der präkonditionierten Patienten mußte ebenfalls aufgrund eines Gallelecks mittels einer biliodigestiven Anastomose operativ versorgt werden.

Kleinere Galleleckagen wurden bei vier Patienten (13%) der Kontrollgruppe beobachtet. Die Galleleckagen sistierten dabei spontan, so daß kein erneuter Eingriff nötig wurde. In der Gruppe der präkonditionierten Patienten wurde bei zwei Patienten (6%) galliges Sekret in den eingelegten intraabdominellen Drainagen am zweiten bzw. dritten postoperativen Tag beobachtet, was wenige Tage später spontan sistierte und als geringe Galleläsion klassifiziert wurde (s. Tabelle 6).

Neben biliären Komplikationen gab es weitere Komplikationen in der Kontroll-Gruppe: bei zwei Patienten Wundinfektionen, bei einem Patienten eine anhaltende Aszitesbildung und bei einem weiteren Patienten einen punktionspflichtigen subhepatischen Abszess. Ein Patient der IPC-Gruppe entwickelte nach fünf unauffälligen postoperativen Tagen ein akutes Abdomen, dessen Ursache ein perforiertes Magenulcus war. Eine sofortige Notfall-Operation wurde durchgeführt, der Patient verstarb allerdings in Folge einer nicht beherrschbaren Sepsis neun Tage nach der Leberresektion ohne Hinweis für eine progrediente Leberinsuffizienz. Bei einem Patienten der IPC-Gruppe zeigte sich eine vorübergehende Aszitesproduktion.

4.2.1 Laborparameter

Als wesentliche Parameter, die das Ausmaß des hepatozellulären Schadens nach Leberresektionen widerspiegeln, wurden verschiedene Laborparameter verwendet (s. Tabelle 6).

Dabei läßt sich folgendes feststellen: der Anstieg der Transaminase GPT, als Parameter für die Integrität der Leberzelle ist in der Gruppe der präkonditionierten Patienten (IPC) am 1. postoperativen Tag um 50% geringer als in der Kontrollgruppe (PR). Dies bedeutet ers-

tens, daß die Anwendung der IPC bei Leberresektionen hepatozelluläre Schäden um 50% verringert. Zum zweiten bestätigt dieses Ergebnis die experimentellen Voruntersuchungen, daß die Anwendung der IPC den postoperativen Transaminasenanstieg eindrucksvoll vermindern kann.

Zur Beurteilung der Lebersyntheseleistung diene die Betrachtung der Prothrombin-(Quick)-Aktivität. Dabei lassen sich zwischen beiden Gruppen keine großen Differenzen am 1. postoperativen Tag feststellen.

Zusätzlich wurde für beide Gruppen die Exkretionsleistung der Leber anhand des Stoffwechselfparameters Bilirubin bestimmt. Auch hier gab es keine wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Tab. 7: Ausgewählte Laborparameter am 1. postoperativen Tag

Variable	Pringle (n=31)	Pringle+ IPC (n=30)	p-Wert
Serum ALT(GPT) - U/l am 1. postoperativen Tag			
Mittelwert	456 ±647	233 ±215	0.1
Range	54 – 2888	45 – 852	
Serum Quick (%) am 1. postoperativen Tag			
Mittelwert	57 ±12	60 ±9	0.69
Range	35 – 95	28 - 75	
Serum Bilirubin (mg/dl) am 1. postoperativen Tag			
Mittelwert	1,39 ±1,7	1,37 ±1,2	0.74
Range	0,40 – 9,83	0,41 – 5,59	

In den unten folgenden Abbildungen ist außerdem in graphischer Form der Verlauf ausgewählter Laborparameter (GPT, GOT, Quick und Bilirubin) vom präoperativen Ausgangswert bis zum 7. postoperativen Tag dargestellt.

Für die Transaminasen GPT bzw. GOT läßt sich zeigen, daß bei vergleichbaren präoperativen Ausgangswerten in beiden Gruppen, in der IPC-Gruppe sowohl am 1. als auch 2. postoperativen Tag der Transaminasenanstieg deutlich geringer als in der PR-Gruppe

ausfällt. Zusätzlich zeigt der Verlauf beider Transaminasen am 7.postoperativen Tag eine annähernde Normalisierung der Werte auf den präoperativen Ausgangswert.

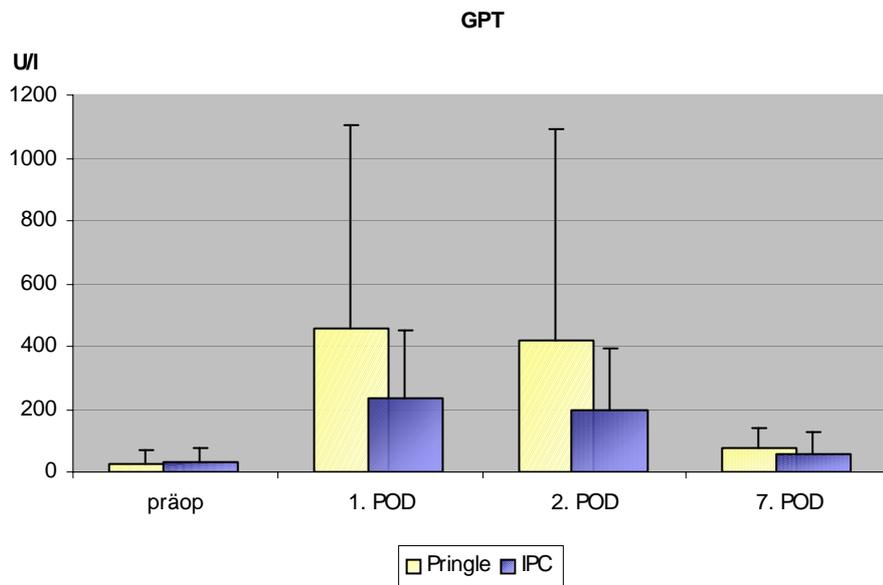


Abb. 6 : GPT – VERLAUF (MW±SD) präoperativ bis zum 7.postoperativen Tag (7. POD)

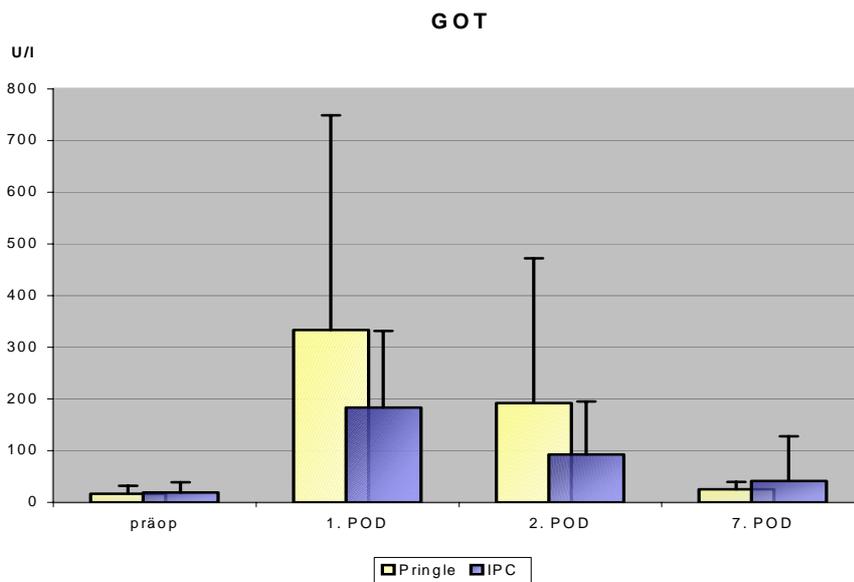


Abb. 7 : GOT – VERLAUF (MW±SD) prä-operativ bis zum 7.postoperativen Tag (7.POD)

Die Betrachtung des Quick-Wertes als Maß für die Syntheseleistung der Leber zeigt keine großen Differenzen zwischen beiden Gruppen. Nach einem Abfall am 1. postoperativen Tag (um ca. 30%), kommt es in den folgenden Tagen zur allmählichen Normalisierung. Sieben Tage nach dem operativen Eingriff erreicht der Quick- Wert bereits weitgehend normale Werte.

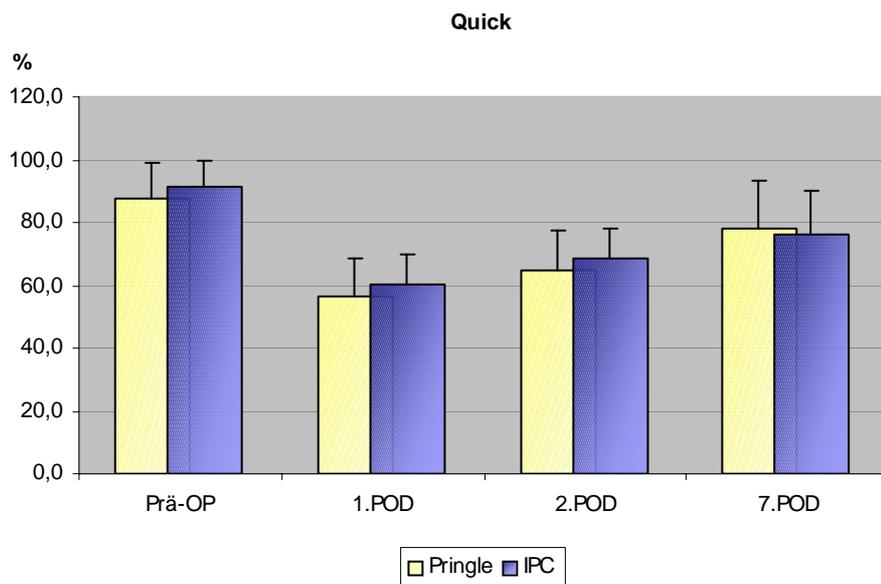


Abb. 8 : Quick-Verläufe (MW \pm SD) präoperativ bis zum 7. postoperativen Tag (7. POD)

Der Verlauf des Stoffwechselfparameters Bilirubin zeigt keine wesentlichen Unterschiede zwischen beiden Studiengruppen; nach einer vorübergehenden nicht-signifikanten Erhöhung am 1. bzw. 2. postoperativen Tag, normalisieren sich die Werte bis zum 7. postoperativen Tag.

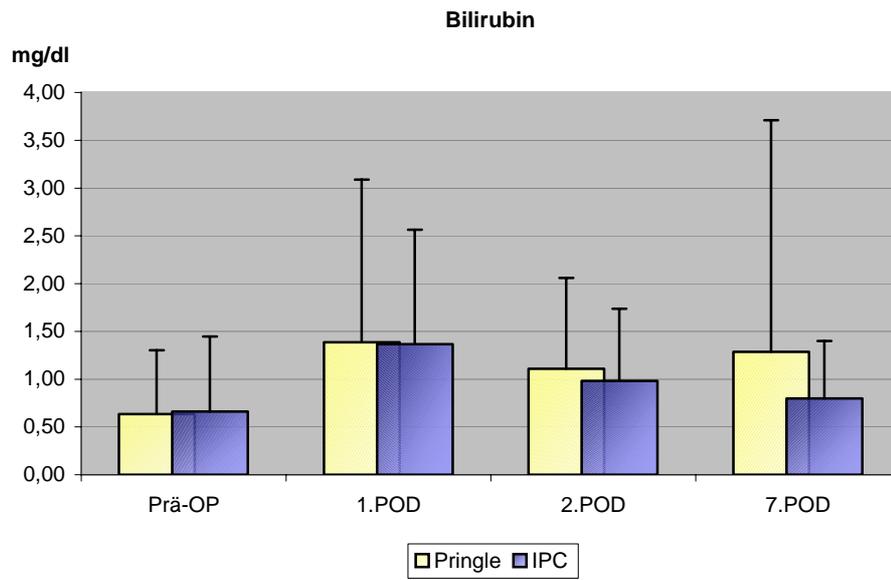


Abb. 9 : Bilirubin – Verlauf (MW \pm SD) präoperativ bis zum 7. postoperativen Tag (7 .POD)

4.2.2 Prädiktoren für den intraoperativen Blutverlust

Die Variablen, die einen signifikanten Einfluß auf den intraoperativen Blutverlust hatten, sind in Tabelle 8 dargestellt. Dabei fällt in der multivariaten Analyse auf, dass von 6 untersuchten Parameter nur 3 Parameter unabhängige Prädiktoren sind. Im Einzelnen ist dies die Verwendung der ischämischen Präkonditionierung, die Dauer des Pringle- Manövers sowie das Resektionsausmaß. Das Patientenalter, das Ausmaß der Leberverfettung bzw. der Leberfibrose scheinen hingegen keine wesentliche Bedeutung für den intraoperativen Blutverlust zu haben.

Tab. 8 : Variablen, die einen Einfluß auf den intraoperativen Blutverlust haben (Multiple lineare Regression)

	Univariate Analyse p – Wert	Multivariate Analyse p – Wert
Patientenalter	0,35	–
(Vor-) Behandlung mit IPC	0,001	0,005
Dauer des Pringle- Manövers	0,015	0,02
Resektions-Volumen	0,0003	0,001
Grad der Leberverfettung	0,31	–
Grad der Leberfibrose	0,57	–

4.2.3 Prädiktoren für das Auftreten von postoperativen Komplikationen

In der unten gezeigten Tabelle 9 finden sich Variablen, die einen signifikanten Einfluß auf die Entwicklung von postoperativen Komplikationen haben. Auch hier wurde die multivariate Analyse verwendet, die folgendes erkennen lässt: die Unterlassung der Ischämischen Präkonditionierung (IPC) bei der Leberresektion ist ein unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten einer postoperativen Komplikation. Ein weiterer Parameter, der einen signifikanten prädiktiven Wert hat, ist die Dauer des Pringle – Manövers. Dies spiegelt möglicherweise die erhöhte Morbidität bei komplexen Eingriffen mit langen Ischämiezeiten wider.

Tab. 9 : Variablen, die einen Einfluß auf postoperative Komplikationen haben (Logistische Regression)

	Univariate Analyse	Multivariate Analyse
	p – Wert	p – Wert
Patientenalter	0,41	–
(Vor-) Behandlung mit IPC	0,038	0,047
Dauer des Pringle – Manövers	0,043	0,022
Resektions – Volumen	0,067	–
Grad der Leberverfettung	0,81	–
Grad der Leberfibrose	0,94	–

4.3 Antioxidantien

Nach diversen Untersuchungen von Jaeschke (Jaeschke 1988/1990) am Tiermodell kann die Plasmakonzentration von Glutathion in reduzierter (GSH) und oxidiertes (GSSG) Form Aufschluss geben, welches Ausmaß die Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen (ROS) während der Reperfusion postischämischer Lebern annimmt. So sollten die GSSG-Plasmakonzentrationen mit der ROS-Bildung im Plasma annähernd korrelieren. Experimentelle Untersuchungen zeigten während der frühen Reperfusion einen signifikanten GSSG-Anstieg im Plasma, der durch Kupfer-Zell-(KC) Blockade aufgehoben werden konnte. Dies bedeutet erstens, daß die KC für die ROS-Produktion sichtlich relevant sind. Zweitens kann durch die Möglichkeit der GSSG-Bestimmung die ROS-Bildung im extrazellulären Raum indirekt quantifiziert werden.

In den beiden folgenden Abbildungen ist der Konzentrationsverlauf des endogenen Antioxidans Glutathion im Plasma in reduzierter (GSH) und oxidiertes (GSSG) Form zu sehen. Diese Konzentrationen wurden bei je 5 Patienten in der IPC – Gruppe und 5 Patienten der PM – Gruppe (Kontroll-Gruppe) im zentralvenösen Blut gemessen und sollten darüber Aufschluß geben, ob die IPC einen Einfluß auf die postischämische ROS-Freisetzung hat.

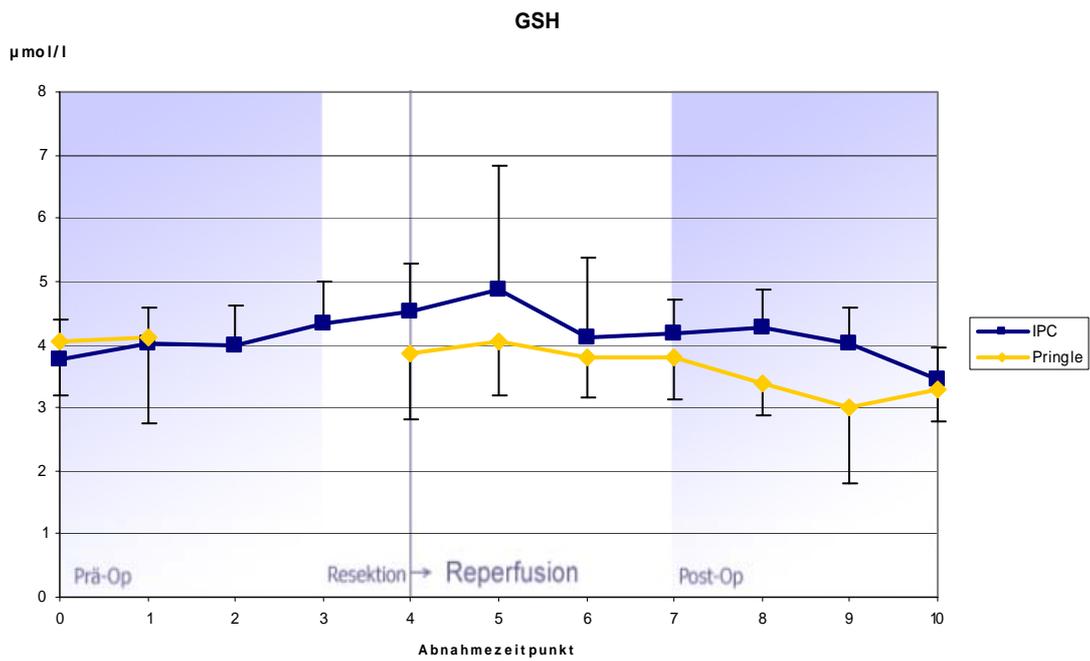


Abb.10 : Glutathion reduziert (GSH)(IPC vs. PM) ($MW \pm SD$) zentralvenös, (präOp) bis zum 7.postop.Tag (7.POD)

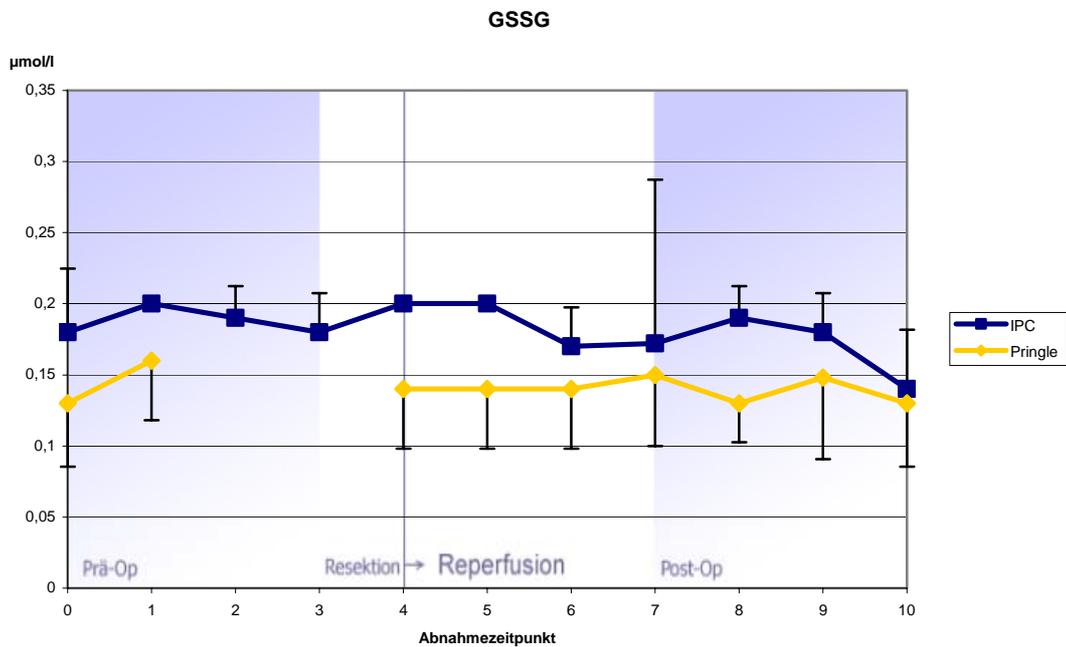


Abb. 11: Glutathion oxidiert (GSSG) (IPC vs. PR) ($MW \pm SEM$) zentralvenös, (präOp) bis zum 7.postoperativen Tag

- 1) *Glutathion in reduzierter Form (GSH)*: in der Gruppe der ischämisch präkonditionierten Patienten (IPC) sind die MW kontinuierlich (nicht signifikant) höher als in der Pringle (PR)- Gruppe. Nach Reperfusion steigt in der IPC – Gruppe die GSH – Konzentration stärker an, als dies in der PR – Gruppe der Fall ist. Zwei Stunden nach Reperfusionbeginn erreicht die GSH-Konzentration niedrigere Werte als vor Beginn der Reperfusion. Diese Beobachtung setzt sich im weiteren Verlauf fort.

Am 7. postoperativen Tag hat die GSH – Konzentration der IPC – Gruppe ungefähr den Ausgangswert erreicht.

- 2) *Glutathion in oxidierten Form (GSSG)*: auch hier sind in der IPC – Gruppe die MW kontinuierlich (nicht signifikant) höher als in der PR – Gruppe. Zusätzlich erreicht die GSSG-Konzentration zwei Stunden nach Reperfusionbeginn nicht die Ausgangswerte vor Reperfusion. Sowohl in der IPC als auch in der PR – Gruppe bleibt in den ersten Minuten nach Reperfusionbeginn die GSSG – Konzentration konstant.

Zusammengefaßt scheint die IPC keinen Einfluß auf die ROS-Freisetzung im Plasma bzw. deren Detoxifikation durch GSH zu besitzen.

5 Diskussion

Bei der vorliegenden Arbeit und zusammengefasst zeigen sich folgende wesentliche neue Erkenntnisse:

- 1) Es handelt sich um die erste klinische Studie zur ischämischen Präkonditionierung (IPC) bei Leberresektionen, die prospektiv randomisiert durchgeführt wurde.
- 2) Die ischämische Präkonditionierung (IPC) ist im klinischen Alltag durchführbar und ist nicht mit einer Gefährdung der Patienten verbunden.
- 3) Die ischämische Präkonditionierung (IPC) reduziert signifikant Morbidität und Mortalität nach Leberresektionen.
- 4) Die ischämische Präkonditionierung (IPC) reduziert Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) der Leber.
- 5) Die ischämische Präkonditionierung (IPC) scheint keinen Einfluß auf das Redox-System GSSG-/GSH zu haben.

5.1 Patienten

Sowohl hinsichtlich Alter, Geschlecht und Dignität der Erkrankung sind beide Studien-
gruppen vergleichbar. Auch andere publizierte Studien verwenden vergleichbare Patienten-
kollektive, so dass von einem repräsentativen Patientenkollektiv in dieser Arbeit ausgegan-
gen werden kann.

Es ist bekannt, dass bei Patienten mit bekannter Vorschädigung des Leberparenchyms, z.B.
in Form von Zirrhose oder Verfettung, eine deutlich erhöhte postoperative Morbidität zu
erwarten ist (Karibori 2003). Diese Patienten wurden nicht in die Studiengruppen mitein-
bezogen da hier zusätzliche Effekte den intra – wie auch postoperativen Verlauf beeinflus-
sen könnten. Beide Patientengruppen weisen neben demographischen Gemeinsamkeiten
keine Unterschiede hinsichtlich der präoperativ bestimmten Laborparameter, der Operati-
onsdauer, dem Ausmaß des Resektionsvolumens sowie der Resektionszeit auf. Auch hin-
sichtlich des Fibrose – bzw. Verfettungsgrades des Lebergewebes gibt es keine signifi-
kanten Unterschiede, so dass auch hier ein homogenes Patientenkollektiv vorliegt.

5.2 Bedeutung der Leberchirurgie heute

Die Leberresektion gehört heutzutage zu den etablierten Verfahren bei der Behandlung von Lebererkrankungen. Resezierende Eingriffe werden sowohl bei benignen als auch bei malignen Veränderungen durchgeführt: ein Großteil der Patienten wird aufgrund von Lebermetastasen kolorektaler Karzinome aus onkologischen Gesichtspunkten operiert. Insbesondere bei diesem Patientenkollektiv sprechen gute Daten für eine Resektion: während die mittlere Überlebensrate unbehandelter Lebermetastasen bei weniger als 12 Monaten liegt (Wood 1976), konnten neuere Studien bei Patienten mit Lebermetastasen eine 5-Jahresüberlebensrate von 27 – 37 % nach radikaler Resektion (R0) beschreiben (Jamison 1997/Fong 1999). Auch der Vergleich mit konservativ (Chemotherapie) behandelten Patienten spricht für die chirurgische Therapie, falls eine Resektion technisch und funktionell möglich ist: während ausschließlich chemotherapeutisch behandelte Patienten ein mittleres Überlebensintervall von 12 – 18 Monaten haben, wird bei chirurgisch behandelten Patienten eine mediane Überlebensrate von 30 – 40 Monaten beschrieben (Malafosse 2001). Die 5-Jahresüberlebensraten nach Leberresektion aufgrund einer zugrundeliegenden Tumorerkrankung schwanken in der Literatur zwischen 25 % (Nordlinger 1987) und 40% (Minagawa 2000). In vergangenen Studien konnte gezeigt werden, dass bei 25 – 53 % der Resektionspatienten ein Rezidiveingriff nach Leberresektion erforderlich wird (Huguet 1990) (Nordlinger 1994) (Malafosse 2001). Dabei konnte gezeigt werden, dass sich die postoperative Morbidität und Mortalität nicht wesentlich von der Rate Erst-resezierter Patienten unterscheidet. Nordlinger et al (Nordlinger 1994) konnte an 146 Patienten, die sich einem Rezidiveingriff nach Leberresektion unterzogen, zeigen, daß die 1-Jahresüberlebensrate bei 78% liegt. Nach 5-10 Jahren beträgt die durchschnittliche Überlebensrate 16 %. Diese Daten sind gegenüber den Überlebensraten Erst-resezierter Patienten nur unwesentlich schlechter.

Darüber hinaus belegen Fortschritte in der Operationstechnik, insbesondere bessere Dissektionsverfahren (Rau 2001) die zunehmende Bedeutung resezierender Eingriffe an der Leber. Zusätzlich haben bessere Diagnostikmöglichkeiten mittels MRT und Volumetrie, sowie Fortschritte im anästhesiologischen Bereich maßgeblichen Anteil am großen Erfolg der Leberchirurgie in den vergangenen Jahren.

5.3 Verfahren zur Reduzierung des intraoperativen Blutverlusts

Ein vorrangiges Ziel in der Leberchirurgie ist die Minimierung des Blutverlustes und die Vermeidung von Bluttransfusionen. Beides sind entscheidende Faktoren, die maßgeblich den Kurz- und Langzeitverlauf nach Leberresektionen beeinflussen (Nagorney 1989) (Tsao 1994) (Tanabe 1995) (Heiss 1998) (Heiss 2000) (Jarnagin 2002).

Obwohl einige Leberresektionen ohne Unterbrechung der Blutzufuhr der Leber durchgeführt werden können, erfordert ein relevanter Teil von Resektionseingriffen ein passageres Abklemmen des Leberhilus in Form des Pringle-Manövers (PM), in Einzelfällen sogar durch vollständiges Ausklemmen des Blutein- und Ausstroms der Leber (sog. 'total vascular exclusion'). Letzteres erfolgt bei Patienten, bei denen die Tumordinvasion bis in die V.cava inferior reicht und dieser Gefäßabschnitt reseziert werden muß. Das PM hat zum einen den Vorteil, dass sich dem Operateur ein übersichtlicherer Operationssitus bietet, da der Blutverlust deutlich minimiert wird. Ein entscheidender Nachteil sind allerdings hepatozelluläre Schäden, die während der Ischämie/Reperfusion auftreten. Dabei konnte experimentell eindeutig gezeigt werden, daß die Ischämiedauer direkt mit dem Ausmaß des hepatozellulären Schadens korreliert (Vollmar 1994).

Zusätzlich erfordern immer komplexer werdende Eingriffe längere Ischämiephasen und es konnte eindeutig nachgewiesen werden, daß das Vorhandensein chronischer Vorschädigungen der Leber, die Ischämietoleranz deutlich beeinflußt (Huguet 1994).

Vorrangiges Ziel in der Leberchirurgie muß also sein, bei möglichst effektiver Blutungskontrolle möglichst geringe Ischämie-/Reperfusionsschäden (IRS) der Leber zu erzeugen. Hierzu werden derzeit verschiedene protektive Ansätze in der Leberchirurgie verwendet:

1987 berichtete erstmals Makuuchi (Makuuchi 1987) von einem intermittierenden Pringle-Manöver, um damit assoziierte Reperfusionsschäden zu minimieren. Dieser Ansatz wird vor allem in Asien eingesetzt. Dabei kommen unterschiedliche Protokolle zum Einsatz, bei denen auf eine 10 – 30 minütige Gefäßabklemmung, intermittierende Reperfusionsphasen von 5 – 15 Minuten folgen (Makuuchi 1987/Hardy 1995). Experimentelle Untersuchungen (Hardy 1995/van Wagenveld 1999) und eine erste klinische Studie von Belghiti et al 1999 (Belghiti 1999), die ein intermittierendes Pringle-Manöver mit mehreren 15 minütigen Ischämie- und daran anschließenden 5- minütigen Reperfusionsphasen verwendet, konnte einen deutlich reduzierten Leberschaden im Vergleich zu einem kontinuierlichen Pringle –

Manöver (PM) nachweisen. Japanische Autoren berichten in diesem Zusammenhang sogar von Ischämiephasen bis zu 320 Minuten, die mit Hilfe des intermittierenden Pringle-Manövers möglich waren (Sakamoto 1999). Auch wenn die genauen Mechanismen nicht bekannt sind und diese Studien mögliche Vorteile des intermittierenden Pringle-Manövers aufzeigen, gibt es einige Nachteile: ein intermittierendes Pringle – Manöver bedeutet eine signifikante Verlängerung der Operationszeit, da während der meist 15- minütigen Reperfusionzeit kein Operationsfortschritt erzielt wird. Darüberhinaus kann der Blutverlust aufgrund der mehrfachen Reperfusionphasen erhöht sein, was auch den Einsatz von Bluttransfusionen mit entsprechenden Risiken vermehrt erforderlich machen könnte (Belghiti 1999). Eine erst kürzlich veröffentlichte Arbeit konnte diese nachteiligen Erkenntnisse bestätigen (Rüdiger 2002). Somit relativiert sich der protektive Effekt des intermittierenden Pringle-Manövers in der Klinik erheblich.

Einen grundsätzlich ähnlichen, jedoch mechanistisch völlig anderen Ansatz zur Reduktion von Ischämie-Reperfusionsschäden (IRS) beinhaltet das Konzept der ischämischen Präkonditionierung (IPC), das in dieser Arbeit untersucht wurde: nachdem die IPC zu einer experimentell nachgewiesenen Reduktion von Reperfusionsschäden führte, sollten diese Erkenntnisse auch in der klinischen Situation überprüft werden. Dazu wurde die erste prospektiv, randomisierte klinische Studie weltweit durchgeführt. Das Hauptaugenmerk wurde auf zwei Dinge gerichtet: neben der Frage der gefahrlosen Durchführbarkeit der IPC bei Patienten (Verlängerung der Gesamtschämiezeit) wurde das mögliche protektive Potential der IPC, Ischämie-/Reperfusionsschäden vermittelte Früh – und Spätschäden (insbesondere Morbidität und Mortalität) zu vermeiden, untersucht. In Anlehnung an experimentelle Voruntersuchungen zur IPC (Peralta 1997/Schauer 2000) wurden 10 Minuten Ischämie gefolgt von weiteren 10 Minuten Reperfusion unverändert zu experimentellen Protokollen in die Klinik übertragen.

5.4 Diskussion der Ergebnisse

5.4.1 Patienten

Beide untersuchten Patientenkollektive unterschieden sich hinsichtlich demographischer Daten, zugrundeliegender Erkrankung sowie der präoperativen Charakteristika (Laborparameter und fibrotische bzw. steatotische Leberbeschädigung) nicht. Die Resektionsvolumina, die Resektionszeiten sowie die Dauer des Pringle-Manövers zeigten zusätzlich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen.

5.4.2 Hepatozelluläre Schäden

Der Vergleich des Transaminasen – Verlaufes in beiden Studiengruppen bestätigt die Befunde aus anderen klinischen Studien (Clavien 2000). In beiden Studiengruppen kommt es zu einem schnellen, sehr frühen Anstieg insbesondere der Transaminasen (GOT/GPT) am 1. postoperativen Tag . Auch wenn einige Untersucher zur Quantifizierung von Leberschäden die α GST verwenden (van Wagenveld 1997), werden nach wie vor die Transaminasen GOT/GPT im klinischen Alltag als Parameter von Leberzellschäden verwendet. Die Bestimmung der α GST ist für den klinischen Alltag zu aufwendig und nicht überall etabliert. Zudem stützt sich die Bestimmung der Transaminasen unter anderem auf die Erkenntnisse von Iu et al (Iu et al 1987): dabei untersuchte er mehrere Parameter für Leberschäden am isolierten Rattenperforationsmodell und konnte zeigen, dass die AST(GOT) – Freisetzung am Besten mit dem Ausmaß des Leberschadens korreliert. Das Ausmaß des Leberschadens ist einerseits von der Ischämiedauer, andererseits aber auch vom Resektionsvolumen abhängig. Basierend auf diesen experimentell gezeigten Ergebnissen verwenden viele klinische Studien Anstieg und Verlauf der leberspezifischen Transaminasen (GOT/GPT), um Aussagen über einen postischämischen hepatozellulären Schaden, zu treffen (Belghiti 1999/ Man 1997). So steigen vor allem in den ersten 24 h nach Operation die Transaminasen deutlich an, und normalisieren sich im weiteren postoperativen Verlauf. Diese Erkenntnisse decken sich mit anderen Studien (Aronsen 1969/Nagasue 1982). Dabei wurden auch vorgeschädigte Lebern in die Untersuchung miteinbezogen. So wurde insbesondere bei zirrhotischen Patienten eine Erhöhung der Transaminasen bis zu 2 Wochen nach Operation beobachtet (Nagasue 1982). Die wahrscheinlichste Erklärung für eine

Transaminasenerhöhung nach Leberresektion ist dabei die Enzymfreisetzung durch geschädigte Leberparenchymzellen der Restleber.

In der vorliegenden Arbeit läßt der Vergleich der beiden Studiengruppen folgende Dinge erkennen:

Insbesondere am 1. postoperativen Tag zeigt sich der protektive Effekt der ischämischen Präkonditionierung (IPC) an deutlich niedrigeren ALT(GOT)- bzw AST(GPT)- Werten im Vergleich zur Pringle-Manöver (PM) Gruppe: die GOT –Werte in der IPC – Gruppe sind dabei mit 183 U/l im Vergleich zu 333 U/l in der PR-Gruppe um 50 % niedriger. Gleiches gilt für die GPT-Werte: hier sind in der IPC-Gruppe GPT-Werte von 233 U/l im Vergleich zu GPT-Werten von 455 U/l in der PR-Gruppe zu beobachten. Diese Werte unterstreichen damit eindrucksvoll, daß der Transaminasenanstieg in der IPC-Gruppe um 50% im Vergleich zur PR-Gruppe reduziert ist. Im weiteren Verlauf reduziert sich allerdings dieser Unterschied, am 7.postoperativen Tag sind beinahe die Ausgangswerte erreicht. Man kann also davon ausgehen, daß nach 7.Tagern sowohl in der IPC- als auch in der PR-Gruppe die Erholung des Restlebergewebes ungefähr vergleichbar ist. Eine erst kürzlich veröffentlichte Studie von Clavien et al (Clavien 2000) berichtet sogar von signifikanten Unterschieden der GOT – bzw. GPT – Werte am 1. postoperativen Tag bei Patienten, bei denen eine vergleichbare IPC mit 10 minütigen Ischämie-und sich anschließenden 10 minütigen Reperfusionphasen durchgeführt wurde im Vergleich zu Patienten mit herkömmlichem Pringle - Manöver.

Im Gegensatz dazu konnte in der vorliegenden Arbeit ein zwar deutlicher, jedoch nicht signifikanter Unterschied der Transaminasen zwischen den Studiengruppen gefunden werden. Eine mögliche Erklärung für diesen Unterschied berücksichtigt folgende Faktoren:

- 1) die Anzahl der eingeschlossenen Patienten (12 pro Gruppe) ist bei Clavien et al (Clavien 2000) geringer als in der vorliegenden Arbeit (30 bzw. 31 pro Gruppe)
- 2) Clavien et al (Clavien 2000) verwenden bei allen Operationen die gleiche vor Studienbeginn festgelegte Ischämiezeit von 30 Minuten unabhängig von der Resektionszeit. Die vorliegende Arbeit enthält Patienten mit Ischämiezeiten von 15 – 82 Minuten (IPC-Gruppe) und 8 – 67 Minuten (PR-Gruppe). Diese Unterschiede der Ischämiezeiten spiegeln allerdings wesentlich besser die klinische Situation wider.

- 3) Clavien et al verwendeten ausschließlich Hemihepatektomien – die vorliegende Arbeit enthält zu zwei Dritteln Segmentresektionen und nur zu einem Drittel Hemihepatektomien, d.h. die Resektionsvolumina und damit (wie oben erwähnt) mögliche Transaminasenänderungen sind weniger homogen.

Dabei ist zu bedenken, daß sich Hemihepatektomien an gut vorgegebenen anatomischen Strukturen (insbesondere der Pfortader und den Lebervenen) orientieren. Zusätzlich sind die Resektionsflächen bei Hemihepatektomien häufig nicht so groß wie dies bei Segmentresektionen der Fall ist.

Im Gegensatz dazu enthält die vorliegende Arbeit sowohl unterschiedliche Resektionsausmaße als auch unterschiedliche Ischämiezeiten wie sie in der Klinik vorkommen. Trotzdem kommt es in der IPC-Gruppe zu einer Reduktion der Transaminasen GPT um 50%. Dies ist umso bemerkenswerter zumal innerhalb des Patientenkollektivs der IPC-Gruppe keine Heterogenitäten hinsichtlich der Resektionsausmaße bzw. der Ischämiezeiten vorliegen.

5.4.3 Bilirubin

Die Bilirubin-Konzentration ist einer der Parameter, die eine postoperative eingeschränkte Leberfunktion anzeigen. Dies zeigt sich nicht zuletzt in der klinischen Relevanz der Bilirubin-Konzentration zur Klassifizierung einer Leberdysfunktion bzw. eines Leberversagens.

Neuere Untersuchungen von Jarnagin et al (Jarnagin 2002) konnten in einer großen Studie an 1803 Leberresektionspatienten nachweisen, daß ein kausaler Zusammenhang zwischen der Hyperbilirubinämie und der perioperativen Morbidität bzw. Mortalität existiert.

In beiden Gruppen erreicht die Bilirubinkonzentration am 1. postoperativen Tag in der IPC-Gruppe Werte von 1,37 mg/dl im Gegensatz zu Werten von 1,39 mg /dl in der PR-Gruppe. Im Vergleich mit den präoperativen Ausgangswerten (0,66 mg/dl (IPC) vs. 0,63 mg/dl (PR)) , die in beiden Gruppen ungefähr identisch sind, sind die Bilirubinkonzentrationen allerdings am 1. postoperativen Tag um annähernd 100% erhöht. Auch am 2. postoperativen Tag lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (0,98 mg/dl (IPC-Gruppe) vs. 1,11 mg/dl (PR-Gruppe) feststellen. Allerdings zeigen die Bilirubinwerte eine Tendenz zur Normalisierung auf präoperative Ausgangswerte. Die am 1. bzw. 2. postoperativen Tag erhöhten Bilirubinkonzentrationen sind in erster Linie Ausdruck der verkleinerten Lebermasse, die zunächst nicht völlig ausreicht, um Bilirubin voll-

ständig zu verstoffwechseln bzw. in den Gallengang zu sezernieren. Zusätzlich könnte der vermehrte Anfall von Bilirubin darauf hinweisen, daß durch Resektion und ggf. Verabreichung von Transfusionsblut vermehrt rote Blutkörperchen abgebaut werden. Dies muß zusätzlich von einer verringerten Anzahl an Leberzellen erfolgen, was wiederum erhöhte Bilirubinkonzentrationen erklären könnte.

Der am 7. postoperativen Tag größere Unterschied zwischen der PR – und IPC – Gruppe lässt sich damit erklären, dass in der PR – Gruppe zwei Patienten ein Leberversagen entwickelten (s. auch Diagramm im Ergebnisteil) und Bilirubin-Werte von 2,42 mg/dl bzw. 8,98 mg/dl erreichten.

5.4.4 Blutgerinnung (Quick-Wert)

Letztlich kann die Betrachtung der Synthese - Parameter, wie z.B. der Prothrombin-Zeit (Quick-Wert) eine Aussage über die Funktion des verbliebenen Restgewebes ermöglichen. Die Gerinnungsfaktoren werden in der Leber synthetisiert. Die Aktivitäten reflektieren die Fähigkeit der Hepatozyten zur Neusynthese und damit die hepatozelluläre Funktionsfähigkeit. Dabei muß allerdings bedacht werden, dass diese Aktivitäten im frühen postoperativen Verlauf nur bedingt den Funktionsstand der Leber als Syntheseorgan widerspiegeln, da der Aktivitätsabfall auch einem Verbrauch der Faktoren zugeschrieben werden kann (Himmelreich 1994). Welchen Anteil eine verminderte Neu-Synthese hat und welchen Anteil der akute Verbrauch am Aktivitätsabfall hat, ist allerdings nicht sicher bestimmbar. So kann die Aktivität des Quick-Wertes zumindest indirekt in Verbindung mit anderen Parametern zur Bestimmung der hepatozellulären Funktion dienen.

In beiden Gruppen zeigen sich präoperative Quick-Werte, die Normalwerten entsprechen (IPC (91%) vs. PR (88%)). Die entsprechenden Quick-Werte für beide Gruppen sind allerdings am 1. postoperativen Tag um mehr als 60% niedriger als die präoperativen Ausgangswerte. Im weiteren untersuchten Zeitraum von 7 Tagen normalisierten sich diese Werte in beiden Gruppen weitgehend, so daß am 7. postoperativen Tag mit Quick-Werten von 77% (IPC) bzw. 78% (PR) nahezu 85% des präoperativen Ausgangswertes erreicht ist. Die Betrachtung dieser Quick-Werte über einen Zeitraum vor einer Leberresektion und 7 Tage nach erfolgter Leberresektion zeigt, daß das verbliebene Restlebergewebe insbesonde-

re am 1. postoperativen Tag zur Synthese von Gerinnungsfaktoren nur begrenzt in der Lage ist. Diese Fähigkeit nimmt allerdings im weiteren postoperativen Verlauf wieder vermehrt zu.

5.4.5 Blutverlust

Der Vergleich des intraoperativen Blutverlusts beider Gruppen lässt vermuten, dass die ischämische Präkonditionierung (IPC) eine wirksame Methode zur Minimierung des intraoperativen Blutverlusts ist: so reduzierte sich in der Gruppe der IPC – Patienten der intraoperative Blutverlust signifikant um 33% gegenüber der Pringle–Gruppe (PR). Außerdem verringerte sich die Anzahl der Patienten, die Transfusionsblut erhielten, signifikant von 48% in der PR – Gruppe auf 17% in der IPC - Gruppe. Dies ist umso bemerkenswerter zumal Resektionsausmaß und Operationszeit in beiden Gruppen absolut vergleichbar waren.

Der Blutverlust bei Leberresektionen wird wesentlich durch retrograde Blutungen aus intrahepatischen venösen Gefäße verursacht und scheint wiederum von einigen Faktoren abhängig zu sein (Rees 1996):

Erstens spielt die Erfahrung des Chirurgen eine Rolle; während bei Clavien (Clavien 2000) alle Resektionen durch einen Chirurgen erfolgte, haben in dieser Arbeit vier unterschiedlich erfahrene Operateure die Resektionen durchgeführt. Dies erlaubt möglicherweise eine allgemeingültigere Wertung der Ergebnisse.

Zweitens spielt neben der Erfahrung des Operateurs auch die entsprechende Dissektionstechnik eine große Rolle: sowohl in der PR – als auch in der IPC – Gruppe erfolgte die Dissektion einheitlich mit Hilfe eines Water – Jets. Grundlage für die einheitliche Verwendung des Water-Jets waren Untersuchungen von Rau et al (Rau 2001), daß der Blutverlust bei Verwendung des Water-Jets signifikant geringer ausfällt, als dies z.B. bei Anwendung anderer Methoden (Ultraschallaspirator bzw. stumpfe Dissektion) der Fall ist.

Drittens kommt der Anästhesieform eine zentrale Rolle zu: bei allen Patienten, unabhängig von der Studiengruppe, wurde ein vergleichbares Anästhesieverfahren gewählt. Zusätzlich wurden bei allen Patienten vergleichbare Hämostase- und Kreislaufverhältnisse ge-

schaffen. Da gerade ein hoher zentralvenöser Druck (ZVD) Blutungen aus den Lebervenen begünstigt, wurden hohe ZVD vermieden und auf einem Niveau von ca. 10 mmHg gehalten. Somit bestehen zwischen den Studiengruppen vergleichbare Anästhesiebedingungen.

Wie erst kürzlich berichtet (Clavien 2000) könnte die Reduzierung des Blutverlusts bei IPC zumindest teilweise auf lokale Hämostaseprozesse an der Leberoberfläche hinweisen. Ein möglicher Mechanismus könnte dabei durch ein protektives Potential der IPC insbesondere für Sinusendothelzellen (SEC) zu erklären sein.

Jüngste tierexperimentelle Untersuchungen von Rüdiger et al (Rüdiger 2002) verglichen den Blutverlust bei IPC mit dem Blutverlust bei intermittierendem PR : auch hier führte die IPC zu einem reduzierten Blutverlust und scheint somit dem intermittierenden Pringle – Manöver überlegen.

In der Multivarianzanalyse zeigt sich in der hier vorliegenden Arbeit zusätzlich, dass die IPC ein unabhängiger Parameter für den verminderten intraoperativen Blutverlust ist.

5.4.6 Postoperative Komplikationen

Auch wenn in den letzten Jahren zahlreiche Verbesserungen auf chirurgischem – bzw. anästhesiologischem Gebiet die Komplikationsraten nach Leberresektionen deutlich reduzieren konnten, ist weiterhin die Vermeidung von intra-und postoperativen Komplikationen ein wesentliches Ziel in der hepatobiliären Chirurgie . Eine der schwerwiegendsten Folgen nach Leberresektion ist die Entwicklung eines Leberversagens (Man 1997/Belghiti 1999). Auch wenn es bisher keine allgemeingültige Definition eines Leberversagens gibt, beinhaltet ein Leberversagen in der vorliegenden Arbeit folgende Kriterien: neben einer massiv eingeschränkten Blutgerinnung und einem anhaltenden Bilirubin-Anstieg sind zerebrale Komplikationen in Form von hepatischer Enzephalopathie/Koma Kennzeichen eines Leberversagens. Dabei scheinen mehrere Faktoren maßgeblichen Anteil an der Entwicklung eines Leberversagens zu haben: neben der Ischämiezeit des Lebergewebes spielt das Resektionsausmaß eine entscheidende Rolle für die Ausbildung eines Leberversagens.

Weitere Faktoren sind das Ausmaß der Vorschädigung der Leber (Fibrose/Verfettung/Zirrhose) und die Menge des intraoperativen Blutverlusts.

In der vorliegenden Arbeit verstarben zwei Patienten aus der Pringle-Manöver-Gruppe (PM) aufgrund eines Leberversagens, weitere zwei Patienten entwickelten eine schwere Leberdysfunktion. In der Gruppe der ischämisch präkonditionierten Patienten (IPC) entwickelte nur ein Patient eine vorübergehende schwere Leberdysfunktion. Dabei variierten die Pringle – Zeiten in der PR – Gruppe von 28 bis 67 Minuten, die längste Ischämiezeit wurde aber in der IPC – Gruppe mit 82 Minuten beobachtet. Obwohl keiner dieser Patienten eine relevante Vorschädigung der Leber hatte und der mittlere Blutverlust der 4 Patienten in der PR – Gruppe bei 3.05 ± 1.33 l niedriger war als bei dem betroffenen Patienten in der IPC – Gruppe (5.0 l), deutet dies auf einen günstigen Effekt der IPC auf die postoperative Leberfunktion hin.

Biliäre Komplikationen sind die häufigste Gruppe möglicher Komplikationen nach Leberresektionen: sie können zu Sepsis und Leberversagen bis hin zum Tode führen. Neuere Untersuchungen aus dem Bereich der Leberlebenspende berichten von biliären Komplikationsraten von bis zu 18% (Egawa 2001) bzw. 6% (Lo 2003).

In der PR – Gruppe gab es insgesamt 6 Galleleckagen, bei 2 Patienten musste sogar eine operative Intervention erfolgen, während die übrigen 4 Patienten keine operative Therapie benötigten. In der IPC – Gruppe wurden 3 Gallelecks beobachtet, bei einem Patienten erfolgte eine Re-Operation, bei den beiden anderen war kein operativer Eingriff nötig.

Die Rate biliärer Komplikationen liegt in der vorliegenden Arbeit mit 19% (PR-Gruppe) bzw. 10% (IPC – Gruppe) etwas höher als die Literaturdaten (Lam 2001) (Lo 1998/2003). Dies könnte auf mehrere Faktoren zurückzuführen sein: der wichtigste Grund ist sicher in einer besonders sorgfältigen, prospektiven Erhebung und Dokumentation bereits minimaler Gallesekretion zu finden: so wurden auch kleine Mengen Galle in den Wunddrainagen berücksichtigt, unabhängig von der Dauer des Auftretens (zwischen 1 und 12 Tagen).

Zudem beinhaltet die vorliegende Arbeit einige Patienten mit sehr großen und ungünstig gelegenen Tumoren. Auch bei Clavien et al (Clavien 2000) wird von geringeren Komplikationsraten berichtet, allerdings werden in der erwähnten Arbeit nur Patienten eingeschlossen, die eine Hemihepatektomie erhielten. Die Hemihepatektomie per se zeichnet sich aber dadurch aus, dass die Resektion exakt an den anatomischen Segmentgrenzen verläuft. Dies

wiederum verursacht potenziell weniger Galleleckagen des verbleibenden Restgewebes, und reduziert damit die Morbiditätsrate deutlich.

Da der Blutverlust bei Leberresektionen ein unabhängiger Faktor für die Ausbildung postoperativer Komplikationen ist (Belghiti 1999) und andererseits die ischämische Präkonditionierung (IPC) bereits signifikant den intraoperativen Blutverlust beeinflusst, wurde dieser Parameter sowohl bei der univariaten als auch multivariaten Analyse hinsichtlich der postoperativen Morbidität ausgeschlossen (Tabelle 7). Mit diesem Vorgehen konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die Verwendung der IPC mit signifikant geringeren Komplikationen ($p < 0,04$) verbunden ist, als dies in der PR – Gruppe der Fall ist. Auch wenn in manchen Studien der Operationsdauer eine wichtige Einflußgröße für die Ausbildung postoperativer Komplikationen zugeschrieben wird (Huguet 1992), wurde zwischen den beiden hier untersuchten Gruppen kein signifikanter Unterschied gesehen. Dies verwundert allerdings, da sich die IPC aus zwei Komponenten zusammensetzt und mit der 10-minütigen Ischämiephase und der 10-minütigen Reperfusionphase immerhin 20 Minuten mehr Operationszeit anfielen, während der aber keine Präparation erfolgte. Während der IPC wurden deshalb keine weiteren operativen Schritte durchgeführt, um zusätzliche Schäden an der Leber auszuschließen. Vergleicht man nun aber die Operationszeiten der beiden Gruppen miteinander, so fällt auf, dass die Operationszeit bei IPC mit 240 ± 63 Minuten kürzer war als dies bei PR mit 271 ± 58 Minuten der Fall war. Bei gleichzeitig signifikant geringerem Blutverlust in der IPC-Gruppe könnten diese Ergebnisse darauf hinweisen, dass die kürzere Operationsdauer bei IPC-Patienten durch verbesserte Hämostaseverhältnisse und einer damit verminderten Notwendigkeit zur ausgedehnten Blutstillung bedingt ist.

Unabhängig von der Gesamt – Operationszeit konnte also erstmals in einer prospektiv randomisierten klinischen Studie gezeigt werden, dass außer der Dauer des Pringle-Manöver (PM) nur noch die Verwendung der ischämischen Präkonditionierung (IPC) ein unabhängiger Faktor für das Auftreten von postoperativen Komplikationen ist.

5.4.7 Postischämische Glutathion-Plasmaspiegel

Das Tripeptid Glutathion kommt bis auf wenige Zellen in nahezu allen lebenden Zellen vor. Nach Siegers und Younes (Siegers 1983) hat Glutathion neben Transport – und Katalysfunktionen eine zentrale Rolle bei der Entgiftung stark oxidierender Stoffe bzw. freier Radikale, die im Stoffwechsel anfallen können. Somit besitzt Glutathion eine wichtige Schutzfunktion gegenüber freien Sauerstoffradikalen (ROS). In den meisten Zellen ist es in hoher Konzentration (bis 10 mM) vorhanden. Dabei unterliegt die zelluläre Konzentration einem Fließgleichgewicht: so ist die Konzentration einerseits von Synthese – Rate und Freisetzung aus der Zelle abhängig, andererseits spielen Abbau (γ – Glutamyl – Transpeptidase) und Verbrauch eine wichtige Rolle. Der Verbrauch erfolgt durch Redox – Prozesse (GSH – Peroxidase) und alkylierende Reaktionen (GSH – S – Transferase). Der aktuelle GSH – Gehalt reflektiert damit einen dynamischen Prozeß. Die Glutathionsynthese erfolgt vor allem in der Leber, der Abbau von GSH überwiegend in der Niere.

Extrazelluläres GSH wird zunächst in der Leber bereitgestellt und über Carrier-vermittelte Transportsysteme in den Lebersinusoidalraum (Plasma) transportiert. Dabei fällt auf, dass die extrazelluläre GSH – Konzentration speziesabhängig bei 5 – 15 μ M liegt (Jaeschke 1988 / Michelet 1995) und damit um ein Vielfaches geringer als intrazellulär ist. Während der frühen Reperfusionphase (<2h) sind vor allem Kupffersche Sternzellen (KC) für die Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen (ROS) verantwortlich. In der späten Reperfusionphase erfolgt die ROS-Freisetzung vornehmlich durch neutrophile Granulozyten (PMN). Dabei entsteht durch Elektronentransfer auf molekularem Sauerstoff das Superoxid –Radikal (O_2^-), welches spontan oder enzymatisch durch die Superoxid-Dismutase (SOD) katalysiert, zu Wasserstoffperoxid (H_2O_2) dismutiert. H_2O_2 und O_2^- sind wichtige Vorstufen für weitere zytotoxische Radikale und Oxidantien. Zusätzlich geht die KC-Aktivierung mit einer hepatozellulären GSH – Freisetzung einher. Die Plasmakonzentration von GSH steigt dabei um den Faktor 5 – 10 an, zusätzlich wird aber auch vermehrt Glutathion oxidiert (Jaeschke 1991 Free Rad). Dieser postischämische Anstieg der Plasma-GSH-Konzentration weist auf endogene Schutzmechanismen durch GSH hin, indem ROS im Extrazellulärraum detoxifiziert werden. Allerdings scheint die protektive Kapazität aufgrund der geringen extrazellulären GSH – Konzentration limitiert zu sein. Der postischämische Anstieg der Plasma-GSH-Konzentration konnte bisher sowohl im warmen Ischämie – Reperusionsmodell als auch im Lebertransplantations-Modell der Ratte nachgewiesen werden (Jaeschke 1990 Am J Physiol) (Schauer 1999). Ob es allerdings auch beim

Menschen nach einer Leberresektion unter Inflow-Okklusion (Pringle-Manöver) zu einem postischämischen Anstieg der GSH-Konzentration im Plasma kommt, war bisher nicht untersucht. Ebenso wenig gab es bisher Daten zum Verlauf der GSH/GSSG-Konzentration nach ischämischer Präkonditionierung.

Die Betrachtung der GSH/GSSG-Konzentration in der Gruppe der ischämisch präkonditionierten Patienten zeigt jedoch in der vorliegenden Arbeit nur minimal höhere GSH/GSSG-Konzentrationen als dies in der Gruppe der mit Pringle-Manöver operierten Patienten der Fall ist. So gibt es zwischen den beiden untersuchten Gruppen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der GSH/GSSG-Konzentrationen. Es ist daher eher unwahrscheinlich, daß die hepatozelluläre Protektion durch ischämische Präkonditionierung (IPC) aufgrund einer reduzierten ROS-Freisetzung von KC erfolgt.

So müssen also andere Mechanismen existieren, die das protektive Potential der IPC erklären: eine kürzlich von Schauer et al (Schauer 2003) veröffentlichte Arbeit befaßt sich mit einem neuen Konzept der Leberprotektion durch IPC und der Rolle der ROS in vivo. Dabei untersuchte Schauer et al (Schauer 2003) den Einfluß der ischämischen Präkonditionierung auf die ROS-Produktion und die entsprechenden GSH/GSSG-Konzentrationen.

Interessanterweise konnte er in seinen Versuchsgruppen zeigen, daß bei Tieren, die ohne IPC behandelt werden eine annähernd gleiche Zunahme an Plasma-GSSG beobachtet wird, wie dies bei Tieren der Fall ist, die mit IPC behandelt wurden. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß die protektiven Mechanismen der ischämischen Präkonditionierung nicht zwangsläufig durch eine Inhibition der Kupffer-Zell-(KC) Aktivität und der mit ihr assoziierten Freisetzung von ROS erreicht wird. Die ischämische Präkonditionierung scheint also das Redox-System Glutathion (GSSG/GSH) nicht zu beeinflussen.

So müssen andere Erklärungsansätze verfolgt werden: möglicherweise könnte das protektive Potential der ischämischen Präkonditionierung (IPC) auf die Induktion einer gesteigerten Resistenz von Parenchym- und Nicht-Parenchymzellen gegenüber freien Sauerstoffradikalen (ROS) zurückzuführen sein. Welche Mechanismen dafür aber genau verantwortlich sind, kann derzeit nicht ausreichend erklärt werden. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang die Beteiligung von Stickstoffmonoxid (NO), welcher als Mediator für protektive Effekte der IPC fungieren könnte (Jaeschke 1991). Dabei könnte die vermehrte NO-Bildung im Rahmen der IPC als eine Art Signalfaktor in der Kaskade der IPC fungieren (Peralta 1997/1998/1999). Peralta et al zeigten im Tierexperiment jedoch auch, daß diese

Effekte ebenfalls über eine Aktivierung von Adenosin-Rezeptoren imitiert werden können (Peralta 1999). Daß die IPC auch beim Menschen über einen Adenosin-vermittelten Mechanismus hepatoprotektiv wirken könnte, zeigen andere Ergebnisse, die Gegenstand einer weiteren, von dieser unabhängigen, Dissertationsarbeit sein werden. Denkbar wäre auch ein Einfluß des zyklischen Guanosinmonophosphates (cGMP) als second messenger für NO. Die Untersuchungen von Bilzer et al (Bilzer 1999) konnten zeigen, daß durch die Aktivierung von cGMP die Resistenz der Leberzellen gegenüber freien Sauerstoffradikalen (ROS) verstärkt wird.

5.4.8 Einfluß der ischämischen Präkonditionierung auf die Leberperfusion

Die Folgen von Ischämie-/Reperfusionsschäden (IRS) stellen in der Leberchirurgie ein großes Problem dar, da u.a. oxidative Schäden nach Reperfusion zur Aktivierung und Leukozytenadhäsion in den Lebersinusoiden (Clavien 1992) führen. Zugrundeliegen komplexe Entzündungsvorgänge (unter Mitbeteiligung aktivierter Kupffer-Zellen (KC)), durch die bereits in der frühen Reperfusionphase eine Anreicherung von neutrophilen Granulozyten (PMN) am Sinusendothel der Leber verursacht wird. Zusätzlich erfolgt konsekutiv die Emigration ins Lebergewebe. Insbesondere die Arbeiten von Zeintl et al (Zeintl 1986) beschreiben genauere Mechanismen: in der frühen Reperfusionphase sind zwei Formen der Leukozyten-Endothel-Interaktion zu beobachten:

Erstens kommt es zu einer temporären Adhärenz am mikrovaskulären Endothel („rolling“).

Zweitens ist eine permanente Adhärenz am Sinusendothel und an den postsinusoidalen Venolen („sticking“) zu beobachten.

Als Roller werden Leukozyten definiert, die aufgrund von Endothelkontakt eine deutlich reduzierte Fließgeschwindigkeit aufweisen (Zeintl 1986). Sticker sind diejenigen Leukozyten, die länger als 20 Sekunden ohne Positionsänderung am Endothel anhaften (Zeintl 1986). Die eigentliche Leukozytenadhäsion verläuft dabei in drei Schritten. Initial kommt es zu einer Interaktion zwischen dem Endothel und den PMN („rolling“). Darauf folgt die

Aktivierung der PMN, so daß es zur festen Bindung kommt („sticking“). Letztlich findet eine Emigration in das perivaskuläre Gewebe statt.

Diese Leukozyten-Endothel-Interaktionen sind maßgeblich an der Verschlechterung der kapillären (sinusoidalen) Leberperfusion beteiligt. Es konnte zusätzlich gezeigt werden, daß aktivierte PMN die Freisetzung potenter Mediatoren fördern, die erneut chemotaktisch für weitere Leukozyten wirken. Somit kommt es zu einer zusätzlichen Verschlechterung der kapillären Leberperfusion in der Frühphase der Reperfusion (Menger 1991).

Die große Bedeutung der Mikrozirkulation im Rahmen von Reperfusionsschäden der Leber wurde von Vollmar et al (Vollmar 1994) untersucht: dabei konnte gezeigt werden, daß Mikrozirkulationsstörungen eine zentrale Rolle im Rahmen des Reperfusionsschadens nach warmer Ischämie einnehmen. Verschiedene Ansätze, die Mikrozirkulationsschäden zu reduzieren wurden seither unternommen.

Nachdem von Zapletal et al (Zapletal 1999) tierexperimentell gezeigt werden konnte, dass präkonditionierte Ratten im Vergleich mit nicht präkonditionierten Ratten eine verbesserte postischämische Mikrozirkulation und eine geringere Leukozytenadhäsion in den Lebersinusoïden aufweisen, könnte dies auch beim Menschen der Fall sein. Eine neuere Arbeit von Schauer (Schauer 2003) konnte zumindest die experimentellen Ergebnisse bestätigen: bei Tieren, die mit ischämischer Präkonditionierung (IPC) behandelt wurden und einer anschließenden 60 - minütigen Ischämiephase ausgesetzt waren, reduzierte sich die Anzahl nicht perfundierter Lebersinusoïde um mehr als 50 % im Vergleich zu Tieren, die ohne ischämische Präkonditionierung behandelt wurden. Zusätzlich konnte in allen Leberazini der Blutfluß verbessert werden. Grund dafür könnte die verminderte Anzahl adhärenter Leukozyten in IPC-behandelten Lebern sein.

Da eine Messung der hepatischen Mikrozirkulation beim Menschen nicht ausreichend valide möglich ist, wurde in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe von Flow Sonden die Abhängigkeit des arteriellen und portalen Blutflusses (Makrozirkulation) während der Reperfusion von der Art des operativen Vorgehens (Pringle-Manöver (PM) vs. Ischämische Präkonditionierung (IPC)) bestimmt. In der PR – Gruppe kam es in der Reperusionsphase zu einer nachhaltigen Einschränkung der Pfortaderperfusion (1123 ± 130 ml/min. (vor Ischämie) versus 762 ± 120 ml/min (nach Ischämie) (=68% der Pfortaderperfusion vor Ischämie). Dies entspricht also einem Rückgang der Perfusion von nahezu einem Drittel. Der arterielle Flow blieb dabei unverändert.

Bei IPC – Patienten konnten dagegen zwei Phänomene beobachtet werden: der postischämische Abfall der Pfortaderperfusion war nur minimal reduziert (730 ± 74 ml/min. (vor Ischämie) versus 656 ± 75 ml/min. (nach Ischämie) (=91% der Pfortaderperfusion vor Ischämie). Außerdem konnte eine deutliche Zunahme der arteriellen Durchblutung beobachtet werden (166 ± 19 ml/min. (vor Ischämie) versus 180 ± 28 ml/min. (nach Ischämie) (=Steigerung der arteriellen Perfusion um ca. 30%).

Diese Erkenntnisse spiegeln die Makro – Perfusion der Leber wider. Es kann aber anhand der Flowwerte möglicherweise davon ausgegangen werden, daß auch beim Menschen die Verwendung der IPC zu einer deutlichen Verbesserung der hepatischen Mikrozirkulation führt. Es wäre also auch beim Menschen, wie bereits experimentell vermutet denkbar, daß eine verminderte Anzahl adhärenter Leukozyten bei ischämisch präkonditionierten Patienten die Mikrozirkulation der Leber nachhaltig verbessert.

6 Zusammenfassung

Bereits seit Tausenden von Jahren widmet sich die Menschheit der Erforschung der Leber. Neben der komplexen Anatomie der Leber mit ihrer einzigartigen Gefäßversorgung, nimmt die Leber aufgrund einer Vielzahl unterschiedlichster Funktionen eine herausragende Stellung im menschlichen Organismus ein. So ist es verständlich, dass Diagnose und ggf. Therapie von Lebererkrankungen, insbesondere von tumorösen Veränderungen, ihren festen Platz in der heutigen Medizin haben. Insbesondere in den letzten Jahren hat dabei die Leberchirurgie eine rasante Weiterentwicklung erfahren, die zu einer maßgeblichen Verbesserung der klinischen Ergebnisse führte. Gründe dafür sind eine verbesserte Patientenselektion und Fortschritte im anästhesiologischen Bereich, vor allem aber die Optimierung und Entwicklung immer subtilerer Operationstechniken, die den Blutverlust während der Leberparenchymdurchtrennung deutlich reduzieren. So ist bekannt, dass der Blutverlust maßgeblich den Kurz- und Langzeitverlauf nach resezierenden Lebereingriffen beeinflusst.

Trotz dieser Erfolge können spezifische Gegebenheiten bei der Leberresektion zu schwerwiegenden Komplikationen führen, die die Gefahr der Leberdysfunktion bis hin zum Leberversagen beinhalten. Auch wenn in der Vergangenheit das Indikationsspektrum für Leberresektionen ständig erweitert werden konnte und heutzutage resezierende Eingriffe aufgrund tumoröser Veränderungen mit einem Parenchymverlust bis zu 75% durchgeführt werden können, müssen vor allem folgende Voraussetzungen gegeben sein: erstens muß eine ausreichende funktionelle Reserve des verbleibenden Lebergewebes gewährleistet sein. Zweitens sollte auf eine möglichst geringe Ischämiezeit während der Resektion geachtet werden. Drittens sollte der Blutverlust so minimal wie möglich sein.

Dies wird z.B. durch die Verwendung des Pringle-Manövers möglich, das heutzutage ein passageres Abklemmen der Arteria hepatica und Vena portae (klassisch mit Gallengang) mittels einer Gefäßklemme umfasst. Damit kann die Blutungsgefahr während der Parenchymdurchtrennung maßgeblich verringert werden. Oftmals ist das Pringle-Manöver erforderlich, um zentral sitzende Tumoren ausreichend sicher entfernen zu können. Neben diesem unschwer erkennbaren Nutzen des Pringle-Manövers, verursacht das Pringle-Manöver allerdings einen massiven Eingriff in die Makro- und Mikrozirkulation der Leber, da es zunächst eine globale Ischämie der Leber mit anschließender Reperfusion verursacht.

Die Dauer des Pringle-Manövers (Ischämiezeit) korreliert dabei mit der Schwere des postoperativen Leberschadens und kann bis zur Leberdysfunktion, oder gar zum Leberversagen führen. Die mit dem Pringle-Manöver assoziierten Komplikationen sind somit als Ischämie-Reperfusionsschäden zu werten.

Als wesentliche Pathomechanismen bei Ischämie-Reperfusion der Leber wurden die Aktivierung ortsständiger Makrophagen, hierbei vor allem von Kupffer Zellen (KC), die extrazelluläre Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) sowie die Entwicklung schwererer Mikrozirkulationsstörungen erkannt.

So hat die hepatobiliäre Chirurgie in der letzten Zeit vor allem präventive Konzepte verfolgt, um das Ausmaß der Ischämie-Reperfusionsschäden während resezierenden Eingriffen zu verringern. Dabei sollen zum einen warme Ischämiezeiten, insbesondere für umfangreiche Leberresektionen gesteigert werden und gleichzeitig das Ausmaß des hepatozellulären Schadens minimiert werden.

Ein möglicher Ansatz zur Prävention von hepatischen Ischämie-Reperfusionsschäden waren die tierexperimentellen Beobachtungen, dass durch eine kurze, ' prä-ischämische ' Ischämie-Reperfusionphase vor einer längeren Ischämiephase (Pringle-Manöver) der hepatozelluläre Schaden deutlich reduziert werden kann. Dieses Verfahren wird als ischämische Präkonditionierung (IPC) bezeichnet.

Ob dieser experimentell erfolgreiche Ansatz allerdings auch im klinischen Alltag anwendbar ist und Reperfusionsschäden durch IPC vermindert werden können bzw. ob die IPC einen relevanten Effekt auf die postoperative Morbidität/Mortalität besitzt, waren die Grundlage der hier vorliegenden Arbeit. So wurde zum ersten Mal weltweit im Rahmen einer klinisch, prospektiv randomisierten Studie der Nachweis einer äußerst effektiven Protektion durch IPC bei Ischämie-Reperfusionsschäden im klinischen Alltag untersucht. Dabei wurden Patientenkollektive verglichen, bei denen große Leberresektionen mit einer globalen Ischämie der Leber (Pringle-Manöver) unterschiedlicher Dauer durchgeführt wurden.

Im Rahmen der vorliegenden Studie konnte eindrucksvoll das protektive Potential der ischämischen Präkonditionierung (IPC) bei Leberresektionen durch neue Erkenntnisse untermauert werden: **1.)** lässt sich die IPC problemlos in den klinischen Alltag integrieren und bedeutet keine höhere Patientengefährdung durch die zusätzliche Ischämiezeit. **2.)** konnte gezeigt werden, dass der intraoperative Blutverlust, der maßgeblich den postopera-

tiven Heilungsverlauf nach resezierenden Eingriffen an der Leber bestimmt, signifikant durch die IPC vermindert werden kann, auch wenn die hierzu zugrundeliegenden Mechanismen derzeit nicht sicher bekannt sind. **3.)** konnte die vorliegende Arbeit zeigen, dass das Auftreten postoperativer Komplikationen, einschließlich Leberdysfunktion und Leberversagen durch die Anwendung der IPC signifikant vermindert werden kann. **4.)** zeigte sich, daß die Anwendung der IPC den postoperativen Transaminasenanstieg um ca. 50% verringert. Dies bedeutet, daß die IPC den Ischämie/Reperfusionsschaden maßgeblich reduziert. **5.)** konnte gezeigt werden, daß der protektive Mechanismus der IPC nicht durch den Einfluß auf die ROS-Freisetzung/Detoxifikation zu erklären ist, sondern möglicherweise mit einer verbesserten Leberperfusion zusammenhängt.

Trotz allem muß aber betont werden, dass die genauen, komplexen protektiven Mechanismen der IPC noch weitgehend unklar sind und noch weitere Untersuchungen folgen müssen. Zukünftige Arbeiten sollten den Einfluß der IPC auf vorgeschädigte Lebern durch Fibrose/Verfettung/Zirrhose untersuchen, da ein Großteil der betroffenen Patienten derartige Parenchymveränderungen und damit ein erhöhtes Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko aufweisen.

7 Literatur

- (1) **Aronsen KF, Ericsson B, Pihl B.**
Metabolic changes following hepatic resection
Ann Surg 1969 Jan;169(1):102-10
- (2) **Belghiti J, Noun R, Malafosse R, Jagot P, et al**
Continuous versus intermittent portal triad clamping for liver resection:
a controlled study
Ann Surg 1999 Mar;229(3):369-75
- (3) **Bilzer M, Gerbes AL**
Preservation injury of the liver: mechanisms and novel therapeutic strategies
J Hepatol 2000;32:508-15
- (4) **Bilzer M, Paumgartner G, Gerbes AL**
Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after hypothermic preservation
Gastroenterology 1999;117:200-10
- (5) **Bilzer M, Jaeschke H, Vollmar AM, Paumgartner G, Gerbes AL**
Prevention of Kupffer cell-induced oxidant injury in rat liver by atrial natriuretic peptide
Am J Physiol 1999;276:G1137-G1144
- (6) **Bilzer M, Paumgartner G, Gerbes AL**
Prolonged antagonism of α 1-adrenergic vasoconstriction in the rat liver by atrial natriuretic peptide
Gastroenterology 1995;108:803-811
- (7) **Bilzer M, Lauterburg BH**
Effects of hypochlorous acid and chloramines on vascular resistance, cell integrity, and biliary glutathione disulfide in the perfused rat liver: Modulation by glutathione
J Hepatol 1991;13:84-89
- (8) **Bismuth H, Castaing D, Garden OJ**
Major hepatic resection under total vascular exclusion
Ann Surg 1989;210:13-19
- (9) **Brass CA, Roberts TG**
Hepatic free radical production after cold storage: Kupffer cell-dependent and -independent mechanisms in rats
Gastroenterology 1995;108:1167-75
- (10) **Caraceni P, Nardo B, Domenicali M, Turi P, et al**
Ischemia-reperfusion injury in rat fatty liver: role of nutritional status
Hepatology 1999 Apr;29(4):1139-46

- (11) **Chien CT, Cheng CL, Lai Wy, Hsu SM, Lee PH**
 Repetitive ischemia/reperfusion potentiates hepatocellular death by apoptosis
 Transplant Proc 1999 Nov;31(7):2926-7
- (12) **Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC**
 Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans
 Ann Surg 2000 Aug;232(2):155-62
- (13) **Clavien PA, Harvey PRC, Strasberg SM**
 Preservation and reperfusion injuries in liver allografts
 Transplantation 1992;53:957-78
- (14) **Couinaud C**
 Lobes et segments hépatiques; notes sur l'architecture anatomique et chirurgicale du foie
 Presse Med 1954;62:709-712
- (15) **Cunningham JD, Fong Y, Shriver C, et al**
 One hundred consecutive hepatic resections. Blood loss, transfusion, and operative technique
 Arch Surg 1994;129:1050-55
- (16) **Egawa H, Inomata Y, Uemoto S, Asonuma K**
 Biliary anastomotic complications in 400 living related liver transplantations
 World J Surg 2001 Oct;25(10):1300-7
- (17) **Ertel W, Morrison MH, Ayala A, Chaudry ICH**
 Hypoxemia in the absence of blood loss or significant hypotension causes inflammatory cytokine release
 Am J Physiol 1995;269:R 160-66
- (18) **Fausto N**
 Liver regeneration
 J Hepatol 2000;32 Suppl 1:19-31
- (19) **Flaherty JT, Weisfeldt ML**
 Reperfusion injury
 Free Radic Biol Med 1988;5:409-19
- (20) **Fong Y, Sun RL, Jarnagin W, Blumgart LH**
 An analysis of 412 cases of hepatocellular carcinoma at a Western center
 Ann Surg 1999 Jun;229(6):790-9
- (21) **Fong Y, Fortner J, Sun RL, Brennan MF, Blumgart LH**
 Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases
 Ann Surg 1999 Sep;230(3):309-18

- (22) **Fraser R, Bowler LM, Day WA, Dobbs B, et al**
High perfusion pressure damages the sieving ability of sinusoidal endothelium in rat livers
Br J Exp Pathol 1980 Apr;61(2):222-8
- (23) **Glazier SS, O'Rourke DM, Graham DI, Welsh FA**
Induction of ischemic tolerance following brief local ischemia in rat brain
J Cereb Blood Flow Metab 1994 Jul;14(4):545-53
- (24) **Gutierrez G**
Cellular energy metabolism during hypoxia
Crit Care Med 1991;19:619-26
- (25) **Halliwell B, Gutteridge JM**
The antioxidants of human extracellular fluids
Arch Biochem Biophys 1990 Jul;280(1):1-8
- (26) **Hardy KJ, Tancheroen S, Shulkes A**
Comparison of continuous versus intermittent ischemia-reperfusion during liver resection in an experimental model
Br J Surg 1995;82:833-36
- (27) **Heiss MM**
Die Bedeutung der Bluttransfusion in der Tumorchirurgie
Zentralbl Chir 125(2000);842-46
- (28) **Heiss MM**
Risk of allogenic transfusions
Br J Anaesth 1998;81(Suppl.1):16-19
- (29) **Himmelreich G, Jochum M, Bechstein WO, et al**
Mediators of leukocyte activation play a role in disseminated intravascular coagulation during orthotopic liver transplantation
Transplantation 1994 Feb;57(3):354-8
- (30) **Hotter G, Closa D, Prados M, et al**
Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide
Biochem Biophys Res Commun 1996 May 6;222(1):27-32
- (31) **Hughes KS, Simon R, Songhorabodi S, et al**
Resection of the liver for colorectal carcinoma metastases: a multi-institutional study of patterns of recurrence
Surgery 1986 Aug;100(2):278-84
- (32) **Huguet C, Gavelli A, Bona S**
Hepatic resection with ischemia of the liver exceeding one hour
J Am Coll Surg 1994;178:454-58

- (33) **Huguet C, Gavelli A, Chieco A, Bona S, et al**
Liver ischemia for hepatic resection: where is the limit
Surgery 1992;111:251-59
- (34) **Huguet C**
Repeat hepatic resection for primary and metastatic carcinoma of the liver
Surg Gynecol Obstet 1990;171(5):398-402
- (35) **Iu S, Harvey PRC, Makowka L, Petrunka CN, et al**
Markers of allograft viability in the rat
Transplantation 1987;45:562-69
- (36) **Jaeschke H, Ho YS, Fisher MA, Lawson JA, et al**
Glutathione peroxidase-deficient mice are more susceptible to neutrophil-mediated hepatic parenchymal cell injury during endotoxemia: importance of an intracellular oxidant stress
Hepatology 1999;29:443-50
- (37) **Jaeschke H, Smith CW**
Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury
J Leukocyte Biol 1997;61:647-53
- (38) **Jaeschke H, Smith CW, Clemens MG, Ganey PE**
Mechanisms of inflammatory liver injury: adhesion molecules and cytotoxicity of neutrophils
Toxicol Appl Pharmacol 1996;139:213-26
- (39) **Jaeschke H, Farhood A, Bautista AP, Spolarics Z, et al**
Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia
Am J Physiol 1993;264:G801-9
- (40) **Jaeschke H**
Reactive oxygen and ischemia/reperfusion injury of the liver
Chem Biol Interact 1991;79:115-36
- (41) **Jaeschke H, Farhood A**
Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver
Am J Physiol 1991;260:G355-62
- (42) **Jaeschke H, Bautista AP, Spolarics Z**
Superoxide generation by Kupffer cells and priming of neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia
Free Rad Res Comm 1991;15:277-84
- (43) **Jaeschke H, Farhood A, Smith CW**
Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo
FASEB J 1990 Dec;4(15):3355-9

- (44) **Jaeschke H**
Glutathione disulfide as index of oxidant stress in rat liver during hypoxia
Am J Physiol 1990;258:G499-505
- (45) **Jaeschke H, Smith CW, Mitchell JR**
Reactive oxygen species and ischemia-reflow injury in isolated perfused rat liver
J Clin Invest 1988;155:278-82
- (46) **Jaeschke H, Smith CW, Mitchell JR**
Hypoxic damage generates reactive oxygen species in isolated perfused rat liver
Biochem Biophys Res Commun 1988;150:568-74
- (47) **Jamison RL, Donohue JH, Nagorney DM, Rosen CB, et al**
Hepatic resection for metastatic colorectal cancer results in cure for some patients
Arch Surg 1997 May;132(5):505-10
- (48) **Jansen PL, Chamuleau RA, van Leeuwen DJ, et al**
Liver regeneration and restoration of liver function after partial hepatectomy in patients with liver tumors
Scand J Gastroenterol 1990 Feb;25(2):112-8
- (49) **Jarnagin WR, Gonen M, Fong Y, De Matteo RP, et al**
Improvement in perioperative outcome after hepatic resection: analysis of 1803 consecutive cases over the past decade
Ann Surg 2002 Oct;236(4):397-406; discussion 406-7
- (50) **Kaibori M, Matsui Y, Kitade H, et al**
Hepatic resection for hepatocellular carcinoma in severely cirrhotic livers
Hepatogastroenterology 2003 Mar-Apr;50(50):491-6
- (51) **Kaneda K, Wake K**
Distribution and morphological characteristics of the pit cells of the liver of the rat
Cell Tissue Res 1983;233(3):485-505
- (52) **Kawada N, Tran-Thi TA, Klein H, Decker K**
The contraction of hepatic stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances. Possible involvement of endothelin 1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus
Eur J Biochem 1993 Apr 15;213(2):815-23
- (53) **Knook DL, Wisse E**
Effect of endothelin-1 and substance P on Ito cell contraction
Cells of the hepatic sinusoid, Vol.4 Leiden: Kupffer cell foundation, 1993:165-7

- (54) **Köckerling FW**
Leberchirurgie:Anatomie, Operationstechniken, Komplikationsvermeidung
Auflage-Heidelberg;Leipzig:Barth, 1999
- (55) **Kohli V, Selzner M, Madden JF, Bentley RC, Clavien PA**
Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver
Transplantation 1999 Apr 27;67(8):1099-105
- (56) **Kume M, Yamamoto Y, Saad S, Gomi T, et al**
Ischemic preconditioning of the liver in rats : implications of heat-shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury
J Lab Clin Med 1996 Sep;128(3):251-8
- (57) **Lam CM, Lo CM, Liu CL, Fan ST**
Biliary complications during liver resection
World J Surg 2001 Oct;25(10):1273-6
- (58) **Langenbuch**
Ein Fall von Resektion eines linksseitigen Schnurlappens der Leber
Heilung Klin Wochenschr.25:37(1888)
- (59) **Lemasters JJ, Peng XX, Bachmann S, Currin RT, et al**
Dual role of Kupffer cell activation and endothelial cell damage in reperfusion injury to livers stored for transplantation surgery
J Gastroenterol Hepatol 1995; 10 Suppl 1:S84-87
- (60) **Liu P, McGuire GM, Fisher MA, Farhood A, et al**
Activation of Kupffer cells and neutrophils for reactive oxygen formation is responsible for endotoxin-enhanced liver injury after hepatic coma
Shock 1995;3:56-62
- (61) **Lloris-Carsi JM, Cejalvo D, Toledo-Pereyra MA, et al**
Preconditioning: Effect upon lesion modulation in warm liver ischemia
Transpl Proc Vol 25, No 6, 1993: pp 3303-3304
- (62) **Lo CM**
Complications and long-term outcome of living liver donors:survey of 1508 cases in five Asian centers
Transplantation 2003 Feb 15;75(3 Suppl);12-5
- (63) **Lo CM, Fan ST, Liu CL, Lai EC, et al**
Biliary complications after hepatic resection: risk factors, management, and outcome
Arch Surg 1998 Feb;133(2):156-61
- (64) **Makuuchi M, Mori T, Gunven P, Yamazaki S, et al**
Safety of hemihepatic vascular occlusion during resection of the liver
Surgery, Gynecology+Obstetrics February 1987 Vol 164: 155-58

- (65) **Malafosse R, Penna Ch, Sa Cunha A, Nordlinger B**
Surgical management of hepatic metastases from colorectal malignancies
Ann of Oncology 2001;12: 887-94
- (66) **Man K, Fan ST, Ng I, Lo CM, et al**
Prospective evaluation of pringle maneuver in hepatectomy for liver tumors
by a randomized study
Ann of Surg 1997;226: 704-713
- (67) **Martikainen P, Kyprianou N, Tucker RW, Isaacs JT**
Programmed death of nonproliferating androgen-independent prostatic
cancer cells
Cancer Res 1991 Sep 1;51(17):4693-700
- (68) **Marzi I, Walcher F, Bühren V**
Macrophage activation and leukocyte adhesion after liver transplantation
Am J Physiol 1993;265: G 172-77
- (69) **McCuskey RS**
Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinu-
soids
Liver 2000;20:3-7
- (70) **McCuskey RS, Reilly FD**
Hepatic microvasculature: dynamic structure and its regulation
Sem Liv Disease 1993;13:1-10
- (71) **McCuskey RS**
Microscopic methods for studying the microvasculature of internal organs
Microcirculatory Technology, New York, Academic Press, 1986:247-64
- (72) **McCuskey RS, McCuskey PA**
Species differences in Kupffer cells and endotoxin sensitivity
Infect Immun 1984;45:278-80
- (73) **McCuskey RS, Vonahme FJ, Grun M**
In vivo and electron after portocaval anastomoses
Hepatology 1983;3:96-104
- (74) **McCuskey RS**
A dynamic and static study of hepatic arterioles and hepatic sphincters
Am J Anat 1966;119:455-78
- (75) **Menger MD, Marzi I, Messmer K**
In vivo fluorescence microscopy for quantitative analysis of the hepatic mi-
crocirculation in hamsters and rats
Eur Surg Res 1991;23:158-69

- (76) **Menger MD, Richter S, Yamauchi J, Vollmar B**
 Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury
 Hepatogastroenterology 1999 Jun;46 Suppl 2:1452-7
- (77) **Michalopoulos GK, DeFrances MC**
 Liver regeneration
 Science 1997 Apr;Vol.276;60-66
- (78) **Michelet F, Gueguen R, Leroy P, Wellman M, et al**
 Blood and plasma glutathione measured in healthy subjects by HPLC:relation to sex, aging, biological variables, and life habits
 Clin Chem 1995 Oct;41(10):1509-17
- (79) **Minagawa M**
 Extension of the frontiers of surgical treatment of liver metastases from colorectal cancer: long term results
 Ann Surg 2000;231 (4):487-99
- (80) **Moncada S, Higgs A**
 The L-arginine-nitric oxide pathways
 N Engl J Med 1993;32:2002-12
- (81) **Motoyama S, Minamiya Y, Saito S, Saito R, et al**
 Hydrogen peroxide derived from hepatocytes induces sinusoidal endothelial cell apoptosis in perfused hypoxic rat liver
 Gastroenterology 1998 Jan;114(1):153-63
- (82) **Murry CE, BS, Jennings RB, Reimer KA**
 Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium
 Circulation 1986, Vol.74, No.5:1124-36
- (83) **Nagasue N, Inokuchi K, Kanashima R**
 Release of lysosomal enzymes after partial hepatectomy: studies of patients with or without cirrhosis of the liver
 Arch Surg 1982 Jun;117(6):772-6
- (84) **Nagorney DM, van Heerden JA, Ilstrup DM, Adson MA**
 Primary hepatic malignancy: surgical management and determinants of survival
 Surgery 1989 Oct;106(4):740-8
- (85) **Noack K, Bronk SF, Kato A, Gores GJ**
 The greater vulnerability of bile duct cells to reoxygenation injury than to anoxia. Implications for the pathogenesis of biliary strictures after liver transplantation
 Transplantation 1993 Sep;56(3):495-500

- (86) **Nordlinger B, Guiget M, Vaillant JC, Balladur P, et al**
Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver: a prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients
Cancer 1996 Apr 1;77(7):1254-62
- (87) **Nordlinger B, Vaillant JC**
Repeat resections for recurrent colorectal liver metastases
Cancer Treat Res 1994;69:57-61
- (88) **Nordlinger B, Quilichini MA, Parc R, Hannoun L, et al**
Hepatic resection for colorectal liver metastases
Ann Surg March 1987 Vol 205:256-63
- (89) **Pang CY, Forrest CR**
Acute pharmacologic preconditioning as a new concept and alternative approach for prevention of skeletal muscle ischemic necrosis
Biochem Pharmacol 1995 Apr 18;49(8):1023-34
- (90) **Pascher A, Sauer IM, Walter M, et al**
Donor evaluation, donor risks, donor outcome, and donor quality of life in adult-to adult living donor liver transplantation
Liver Transpl 2002 Sep;8(9):829-37
- (91) **Peralta C, Hotter G, Closa D, Prats N, et al**
The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors
Hepatology 1999 Jan;29(1):126-32
- (92) **Peralta C, Closa D, Xaus C, Gelpi E, et al**
Hepatic preconditioning in rats is defined by a balance of adenosine and xanthine
Hepatology 1998 Sep;28(3):768-73
- (93) **Peralta C, Hotter G, Closa D, Gelpi E, et al**
Protective effect of preconditioning on the injury associated to hepatic ischemia-reperfusion in the rat: role of nitric oxide and adenosine
Hepatology 1997 Apr;25(4):934-7
- (94) **Poon RT, Fan ST, Lo CM, Ng IO, et al**
Improving survival results after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study of 377 patients over 10 years
Ann Surg 2001 Jul;234(1):63-70
- (95) **Pringle JH**
Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma
Ann Surg 1908;48:541-49

- (96) **Rau HG, Schauer R, Pickelmann S, Beyer BCM, et al**
Dissektionstechniken in der Leberchirurgie
Chirurg 2001; 72:105-112
- (97) **Rees M, Plant G, Bygrave S**
Late results justify resection for multiple hepatic metastases from colorectal cancer
Br J Surg 1997 Aug;84(8):1136-40
- (98) **Rees M, Plant G, Wells J, Bygrave S**
One hundred and fifty hepatic resections: evolution of technique towards bloodless surgery
Br J Surg 1996 Nov;83(11):1526-9
- (99) **Rosser BG, Gores GJ**
Liver cell necrosis: cellular mechanisms and clinical implications
Gastroenterology 1995;108:252-75
- (100) **Roth S, Li B, Rosenbaum PS, Gupta H, et al**
Preconditioning provides complete protection against retinal ischemic injury in rats
Invest Ophthalmol Vis Sci 1998 Apr;39(5):777-85
- (101) **Rüdiger HA, Kang KJ, Sindram D, Riehle HM, et al**
Comparison of ischemic preconditioning and intermittent and continuous in-flow occlusion in the murine liver
Ann Surg 2002 Vol 235, No 3:400-407
- (102) **Saido TC, Sorimachi H, Suzuki K**
Calpain: new perspectives in molecular diversity and physiological-pathological involvement
FASEB J 1994;8:814-22
- (103) **Sakamoto Y, Makuuchi M, Takayama T, Minagawa M, et al**
Pringle's maneuver lasting 322 min
Hepatogastroenterology 1999 Jan-Feb;46(25):457-8
- (104) **Sakurai M, Hayashi T, Abe K, Aoki M, et al**
Enhancement of heat shock protein expression after transient ischemia in the preconditioned spinal cord of rabbits
J Vasc Surg 1998 Apr;27(4):720-5
- (105) **Schauer R, Bilzer M, Kalmuk S, Gerbes AL, et al**
Oxidized plasma glutathione: an indicator of microcirculatory failure after hypothermic liver preservation?
Transplantation 1999;67:587 A

- (106) **Schauer R, Gerbes AL, Vonier D, Op den Winkel M, et al**
Induction of cellular resistance against Kupffer Cell-derived oxidant stress: a novel concept of hepatoprotection by ischemic preconditioning
Hepatology 2003 Feb;37(2):286-95
- (107) **Schauer R**
Ischemic preconditioning prevents microcirculatory failure following extended warm ischemia of the rat liver
Hepatology 2000;32:498(A)
- (108) **Scheele J**
Anatomical and atypical liver resections
Chirurg 2001 Feb;72(2):113-24
- (109) **Scheele J, Stangl R, Schmidt K**
Recurrent tumor after RO resection of colorectal liver metastases: incidence, resectability and prognosis
Chirurg 1995 Oct;66(10):965-73
- (110) **Siegers CP, Younes M**
Clinical significance of the glutathione-conjugating system
Pharmacol Res Commun 1983 Jan;15(1):1-13
- (111) **Stephenson KR, Steinberg SM, Hughes KS, Vetto JT**
Perioperative blood transfusions are associated with decreased time to recurrence and decreased survival after resection of colorectal liver metastases
Ann Surg 1988 Dec;208(6):679-87
- (112) **Suc B, Panis Y, Belghiti J, Fekete F**
Natural history of hepatectomy
Br J Surg 1992 Jan;79(1):39-42
- (113) **Sugihara K, Hojo K, Moriya Y, Yamasaki S, et al**
Pattern of recurrence after hepatic resection for colorectal metastases
Br J Surg 1993 Aug;80(8):1032-5
- (114) **Squier MK, Miller AC, Malkinson AM, Cohen JJ**
Calpain activation in apoptosis
J Cell Physiol 1994 May;159(2):229-37
- (115) **Tanabe G, Sakamoto M, Akazawa K, Kurita K, et al**
Intraoperative risk factors associated with hepatic resection
Br J Surg 1995 Sep;82(9):1262-5
- (116) **Thornberry N, Lazebnik Y**
Caspases: enemies within
Science 1998;281: 1312-16

- (117) **Tsao JI, Loftus JP, Nagorney DM, Adson MA, et al**
Trends in morbidity and mortality of hepatic resection for malignancy. A matched comparative analysis
Ann Surg 1994 Aug;220(2):199-205
- (118) **Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, Post S, Menger MD**
Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion
Am J Pathol 1994;145:1421-31
- (119) **van Wagenveld BA, van Gulik TM, Gelderblom HC, et al**
Prolonged continuous or intermittent vascular inflow occlusion during hemipatectomy in pigs
Ann Surg 1999 Mar;229(3):376-84
- (120) **van Wagenveld BA, Scheepers JJ, van Gulik TM, et al**
Alpha glutathione S-transferase as novel parameter for hepatocellular damage in the isolated perfused rat liver
Transplant Proc 1997 Dec;29(8):3449-51
- (121) **Wanner GA, Ertel W, Müller P, Hofer Y, et al**
Liver ischemia and reperfusion induces a systemic inflammatory response through Kupffer cell activation
Shock 1996; 5:34-40
- (122) **Ward PA, Warren JS, Johnson KJ**
Oxygen radicals, inflammation and tissue injury
Free Radic Biol Med 1988;5:403-8
- (123) **Wood CB, Gillis CR, Blumgart LH**
A retrospective study of the natural history of patients with liver metastases from colorectal cancer
Clin Oncol 1976;2:285-88
- (124) **Wisse E, DeZanger RB, Jacobs R, et al**
Scanning electron microscopy observation on the structure of portal veins, sinusoids and central veins
Scanning Electron Misc 1983;3:1441-1452
- (125) **Wisse E**
Ultrastructure and function of Kupffer cells and other sinusoidal lining cells
In: Wisse E, Knook DL(Eds):Kupffer cells and other sinusoidal lining cells. Amsterdam, Elsevier/North Holland, 1977, pp33-60
- (126) **Yadav S, Sindram D, Perry DK, Clavien PA**
Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway
Hepatology 1999;30:1223-1231

- (127) **Yin DP, Sankary HN, Chong AS, Ma LL, et al**
Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats
Transpl 1998 Jul 27;66(2):152-7
- (128) **Zapletal C, Maksan SM, Lehamn T, Guenther L, et al**
Ischemic preconditioning improves liver microcirculation after ischemia/reperfusion
Transplantation Proceedings 1999;31:3260-62
- (129) **Zeintl H, Tompkins WR, Messmer K, Intaglietta M**
Static and dynamic microcirculatory video image analysis applied to clinical applications
Prog Appl Microcirc 1986;11:1-10
- (130) **Zheng L, Fisher G, Miller RE, Deschon J, et al**
Induction of apoptosis in mature T-cells by tumor necrosis factor
Nature 1995 Sep 28;377:348-51
- (131) **Zhou XD, Tang ZY, Yu YQ, Yang BH, et al**
Long-term results of surgery for small primary liver cancer in 514 adults
J Cancer Res Clin Oncol 1996;122:59-62

8 Abkürzungen

ATP	=	Adenosin Triphosphat
cGMP	=	cyclo 3-5-Guanosin-Monophosphat
DTNB	=	5-5' - Dithiobis(nitrobenzoesäure)
EGF	=	Epidermal Growth Factor
GOT	=	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (=AST)
GPT	=	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (=ALT)
GSSG	=	oxidiertes Glutathion
GSH	=	reduziertes Glutathion
H ₂ O ₂	=	Wasserstoffperoxid
HGF	=	Hepatocyte Growth Factor
IL	=	Interleukin
IPC	=	Ischämische Präkonditionierung
IRS	=	Ischämie-Reperfusionsschäden
KC	=	Kupffer-Zellen
NEM	=	N-Ethylmaleimid
NO	=	Stickstoffmonoxid
PAF	=	Platelet Activating Factor
PMN	=	Polymorphonuclear Leukocyte Neutrophil
PR	=	Pringle
PM	=	Pringle-Manöver
ROS	=	freie Sauerstoffradikale
SOD	=	Superoxid-Dismutase
TGF - α	=	Transforming Growth Factor Alpha
TNF - α	=	Tumor Necrose Factor Alpha
SEC	=	Sinusendothel-Zellen
ZVD	=	Zentralvenöser Druck

Danksagung

Herrn Prof. Dr. h.c. F. W. Schildberg danke ich für die Möglichkeit die Untersuchungen an seinem Institut durchführen zu können.

Außerdem danke ich Herrn Prof. H.G. Rau für die Unterstützung bei der Datensammlung und Datenerhebung.

Im Besonderen möchte ich meinem Betreuer und geistigen Vater dieser Arbeit, Herrn PD Dr. R.J. Schauer danken. Seine außergewöhnliche Betreuung bot mir immer ein offenes Ohr für Fragen und nützliche Anregungen. Neben seiner ausgezeichneten fachlichen wie auch menschlichen Unterstützung, setzte er sich auch maßgeblich für meine weitere Berufsplanung ein.

Außerdem möchte ich an dieser Stelle Herrn PD Dr. M. Thiel, Dr. A. Choukér, Dr. O. Heizmann und meinen Mitdoktoranden Frau M. Mayer und Herrn A. Martignogni für Ihre gute und engagierte Unterstützung bei der Durchführung dieser großen Studie danken.

Mein Dank gilt außerdem Herrn PD Dr. M. Bilzer, Medizinische Klinik II, Universitätsklinikum Großhadern, der sämtliche Glutathion-Bestimmungen erst ermöglichte und seiner Mitarbeiterin Frau I. Liß, die die nötigen Pufferlösungen zur Verfügung stellte und die aufwendigen Messungen durchführte.

Herrn Dr. S. Kersting danke ich ganz besonders für seine Anregungen und seine große Unterstützung, diese Arbeit in die vorliegende Form zu bringen.

Letztlich danke ich noch Herrn J. Volk für seine Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Lebenslauf

Name: Volk

Vorname: Andreas Maximilian

Geburtsdatum: 20. Mai 1974

Geburtsort: Stuttgart

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Schulbildung: 1980-84 Lorettogrundschule, Freiburg
1984-93 Humanistisches Berthold-Gymnasium, Freiburg

Zivildienst: 1993-94 Chirurgischer/Orthopädischer OP des Loretto-Krankenhauses, Freiburg

Studium: SoSe 1995 Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig Maximilians-Universität München

05/2002: 3. Staatsexamen

Ärztliche Tätigkeit: Arzt im Praktikum (AIP) seit 08/2002 in der chirurgischen Abteilung der Universitätsklinik München Großhadern (Ehemaliger Direktor: Prof. Dr. h.c. F.W. Schildberg), Direktor: Prof. K.W. Jauch