

**„Beeinflussung des Leberzellmetabolismus  
und der  
Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies  
durch hypotherme oxygenierte oszillierende  
Leberperfusion“**

Dr. P. Dutkowski  
Klinik für Allgemein- und Abdominalchirurgie  
Universität Mainz  
Langenbeckstr. 1, 55101 Mainz

### **Zusammenfassung**

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Effekte einer hypothermen Oxygenierung von Rattenleber als Methode der Leberkonservierung vor Transplantation. Verglichen wird zunächst eine hypotherme oszillierende oxygenierte Perfusion (HOOP) mit der herkömmlichen kalten Lagerung („Cold Storage“, CS). Als Reperusionsmodell wird die isolierte normotherme Leberperfusion nach einer Konservierungszeit von 10h benutzt. Die Ergebnisse zeigen, dass bei hypothermer Oxygenierung (HOOP) die mitochondriale Respiration während der Konservierungsperiode kontinuierlich abläuft mit resultierender ATP- und Energy Charge-Resynthese im Gegensatz zur kalten Lagerung (CS). Durch einen Zusatz von 2mM CaCl<sub>2</sub> zum Konservierungsmedium (modifizierte UW-Lösung) kann außerdem ein während der 10-stündigen Hypothermie in beiden Verfahren (CS und HOOP) aufgetretener Calciumverlust verhindert werden. Während der Reperfusion zeigt die Gruppe der hypotherm oxygenierten Leber (HOOP) im Vergleich zur Lagerungsgruppe (CS) eine höhere Gallenproduktion, eine niedrigere Lipidperoxidation, weniger Glutathionverlust, niedrigere Superoxid-Anionformation, weniger Freisetzung von cytosolischer LDH sowie keine TNF $\alpha$  Exprimierung und keine DANN-Fragmentierung. Licht- und Elektronenmikroskopisch ergibt sich eine bessere Zellprotektion. Durch spektrophotometrische transhepatische Messungen der mitochondrialen Cytochrome werden außerdem die Reduktionszustände des Cytochrom c zwischen beiden Konservierungstechniken verglichen. Eine mitochondriale „electron leakage“ als Ursache der Sauerstoffradikalformation in der Reperfusion, lokalisiert zwischen NADH-Dehydrogenase (Komplex I) und Cytochrom-Oxidase (Komplex III), wird durch Blockierungsexperimente mit Rotenon und KCN bestätigt. Dabei ist das Ausmaß der Sauerstoffradikalfreisetzung in der Reperfusion beeinflussbar durch Reduktion oder Stimulation der mitochondrialen Respiration vor der Reperfusion. Nach hypothermer Lagerung (CS) resultiert insgesamt eine überwiegende Reduktion der Mitochondrialen Komponenten der Atmungskette, bedingt durch die Hypoxie, gegenüber vorwiegend oxidierten mitochondrialen Enzymkomplexen nach hypothermer Oxygenierung (HOOP). Als Ursache für die verminderte Lipidperoxidation und die verbesserte Organviabilität der HOOP-Gruppe wird daher eine Verringerung der Sauerstoffradikalfreisetzung während der Reperfusion durch die vorangegangene Hypotherme Oxygenierung postuliert.

Im letzten Versuchsabschnitt wird durch eine 3-stündige hypotherme Oxygenierung im Anschluß an eine 10-stündige kalte Lagerung (CS) eine metabolische Konversion erreicht mit Resynthese der zellulären Energy Charge, Ausgleich der Calciumdepletion und Abbau des akkumulierten Laktats. Während der hypothermen Oxygenierung nach metabolischer Depletion durch die zuvorige hypotherme Lagerungsperiode kommt es dabei zu keiner Lipidperoxidation oder DANN-Fragmentation. Die konditionierte Leber (10h CS + 3h HOPP) zeigt dann in der Reperfusion weiterhin keine Lipidperoxidation sowie keinen Glutathionverlust und keine TNF $\alpha$  Exprimierung. Licht- und elektronenmikroskopisch besteht ein geringerer Zellschaden in dieser Experimentgruppe (10h CS + 3h HOPP) im Vergleich zur hypothermen Lagerung (10h CS).

Insgesamt erscheint durch die genannten Ergebnisse die Methode der hypothermen oszillierenden Oxygenierung geeignet, um eine metabolische Konversion von depletierten Organen vor Transplantation durchzuführen mit dem Ziel einer Konditionierung kalt ischämisch geschädigter Organe. Weiterhin erscheint die Methode der spektrophotometrischen transhepatischen nichtinvasiven Messung des Redoxzustands des Cytochrom c als sensibel und reproduzierbare Methode, um den mitochondrialen Reduktionszustand vor der Aufwärmung und Reperfusion zu erfassen. Ein Konzept zur Beurteilung der zu erwartenden Sauerstoffradikalfreisetzung wird auf dieser Grundlage vorgestellt.