

**Portaler Blutfluss und Thrombozytopenie nach
Paracetamol-Intoxikation**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Klingert, Wilfried Johannes

2015

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Königsrainer

2. Berichterstatter: Professor Dr. J. Wehkamp

Meinen Eltern
und
meiner Frau

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis.....	III
1 Einleitung	1
1.1 Definition	1
1.2 Ätiologie	2
1.2.1 infektiös	2
1.2.2 toxisch	2
1.2.3 andere Ätiologien.....	3
1.3 Klinik und Komplikationen	4
1.4 Therapie.....	4
1.5 Prognose.....	5
1.5.1 MELD-Score	6
1.5.2 King's College Kriterien	8
1.5.3 APACHE II-Score	9
1.5.4 Clichy-Kriterien	10
1.5.5 BiLE-Score	11
1.6 Fragestellung	12
2 Material und Methoden	13
2.1 Tierschutz.....	13
2.2 Tiermodell, Prämedikation und Anästhesie	13
2.3 Chirurgisches Vorgehen.....	15
2.3.1 Platzierung der Gefäßkatheter und Hirndrucksonde.....	15

2.3.2	Platzierung der Dopplerflusssonde	15
2.3.3	Platzierung des Jejunalkatheters	16
2.4	Paracetamolintoxikation und ALF	17
2.5	Standardisierte intensivmedizinische Betreuung	17
2.6	Kontinuierliche venovenöse Hämofiltration	19
2.7	Biochemische Analysen	20
2.8	Histologische Untersuchungen.....	20
2.9	Statistische Auswertung und Berechnung.....	20
3	Ergebnisse.....	22
3.1	Manifestation des ALF.....	22
3.2	Verlauf des mittleren PBF und der Thrombozyten	31
3.3	Verlauf des berechneten Splanchnicuswiderstandes.....	33
3.5	Autopsie und histologische Untersuchungen der Leberbiopsien	35
3.6	Prognosesysteme.....	38
3.7	Zusammenfassung.....	46
4	Diskussion	47
5	Zusammenfassung	56
6	Abbildungsverzeichnis	58
7	Tabellenverzeichnis	60
8	Literaturverzeichnis.....	61
9	Danksagung.....	67
10	Lebenslauf	68

Abkürzungsverzeichnis

ALF	akutes Leberversagen (acute liver failure)
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
BGA	Blutgasanalyse
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
HAES	Hydroxyethylstärke
Hb	Hämoglobin
HE	Hepatische Enzephalopathie
HF	Herzfrequenz
HU	high urgency
ICP	intrakranieller Druck (intracranial pressure)
ICU	Intensivstation (intensive care unit)
INR	international normalized ratio
KG	Körpergewicht
LTx	Lebertransplantation
LV	Leberversagen
MAP	arterieller Mitteldruck (mean arterial pressure)
MELD	Model for Endstage Liver Disease

PBF	portalvenöser Blutfluss (portal blood flow)
PTT	partielle Thromboplastinzeit
SEM	Standardfehler (standard error of the mean)
ZVD	zentralvenöser Druck (central-venous pressure)

1 Einleitung

Akutes Leberversagen

1.1 Definition

Der Begriff des akuten Leberversagens (engl. acute oder fulminant hepatic failure, acute liver failure, ALF) wurde 1970 von Trey und Davidson eingeführt. Nach ihrer Definition sprach man von einem Leberversagen, wenn es bei einem zuvor gesunden Patienten zu einer Leberschädigung kommt und sich innerhalb von acht Wochen eine Beeinträchtigung des Bewusstseins (hepatische Enzephalopathie, HE) entwickelt [51].

Im Jahr 1993 entwickelte O`Grady eine neue Definition des ALF [40]. Er unterteilte das Leberversagen (LV) anhand der Verläufe in drei Subtypen: *hyperakut*, *akut* und *subakut*. Entscheidend für diese Einteilung ist das Zeitintervall zwischen Auftreten des Ikterus und Entwicklung der HE. Geschieht dies innerhalb von sieben Tagen spricht man vom *hyperakuten LV*, zwischen sieben und 28 Tagen vom *akuten LV* und ist der Zeitraum länger als 28 Tage vom *subakuten LV*. Durch diese Einteilung ist eine bessere Abschätzung der Prognose möglich [5]. Das hyperakute LV zeigt dabei die beste, das subakute die schlechteste Prognose. Auch klinisch unterscheiden sich die drei Subtypen voneinander. So steht beim hyperakuten LV vor allem eine schwere Koagulopathie im Vordergrund. Das akute LV zeichnet sich durch die Entwicklung eines zerebralen Ödems und das subakute LV durch einen schweren Ikterus aus. Desweiteren hat Bernal 2010 gezeigt, dass durch diese Einteilung in die drei Subtypen die Ursachenfindung erleichtert wird [5].

Auch heute wird das ALF durch eine schwere Leberschädigung mit Entwicklung eine HE, sowie dem Ausfall der Leberfunktion bei zuvor Lebergesunden

definiert. Besteht jedoch bereits im Vorfeld eine Lebererkrankung, so spricht man nicht vom ALF, sondern von einem Leberausfallkoma, beziehungsweise von einem exogenen Leberkoma. Die typische klinische Trias bei Manifestation des ALF besteht aus einem Ikterus, Gerinnungsstörungen (Koagulopathie) einer HE [19].

1.2 Ätiologie

Ursachen für ein akutes Leberversagen sind vielfältig, regional unterschiedlich und im Wandel der Zeit veränderlich. In der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts waren fast ausschließlich Infektionen Ursachen für ein ALF. Seit der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts sind zunehmend hepatotoxische Stoffe, vor allem Paracetamol, Hauptursache für ein ALF in den westlichen Industrienationen. In den Entwicklungsländern sind jedoch nach wie vor infektiöse Genesen Hauptursache des ALF [30].

1.2.1 infektiös

Bei den infektiösen Ursachen für ein ALF sind besonders die Hepatitisviren von Bedeutung. Vor allem die akuten Hepatitisinfektionen durch das Hepatitis-A oder B-Virus können zu einem ALF führen. Seltener können auch andere hepatotrope Viren, wie das Herpes-, Cytomegalie- oder Epstein-Barr-Virus, Ursache für einen LV sein [34].

1.2.2 toxisch

Zu den toxischen Ursachen des ALF gehören Medikamente, Drogen, Gifte und Chemikalien. Bei den Medikamenten sind neben Paracetamol auch

Tetrazykline, Phenprocoumon und Phytopharmaka ursächlich für ein ALF. Ecstasy und andere Drogen können genauso wie Pilzgifte (Amatoxine) oder Chemikalien wie Tetrachlorwasserstoff zu einem ALF führen.

Paracetamol ist neben Acetylsalicylsäure (ASS) und Ibuprofen eines der beliebtesten freiverkäuflichen, schmerzstillenden und fiebersenkenden Medikamente [52]. Das in Deutschland seit 1960 erhältliche Medikament wird seit 2009 wegen zunehmenden Missbrauchs nur noch in der Packungsgröße N1 (20 Tabletten je 500 mg) in Apotheken frei verkauft. In anderen Ländern wie beispielsweise den USA ist Paracetamol in jedem Supermarkt freiverkäuflich. Aufgrund dieser einfachen Zugänglichkeit stellt eine akzidentielle oder suizidale Paracetamol-Überdosierung die häufigste Ursache für ein ALF in die USA und dem Großteil der EU-Staaten dar [42]. Ein LV entwickelt sich jedoch nur in 2-5 % der Fälle, die Mortalität liegt bei 30 % und ist abhängig von der eingenommenen Dosis. Begünstigend für die Entwicklung eines LV wirken sich Morbidität, Alkoholabusus, Niereninsuffizienz, Adipositas, vorbestehende Lebererkrankungen, der Missbrauch anderer Substanzen und die Enzyminduktion durch andere Medikamente wie beispielsweise durch Antiepileptika aus [19, 40].

1.2.3 andere Ätiologien

Weit seltenere Ursachen für ein ALF können metabolische Störungen wie Morbus Wilson oder das Reye-Syndrom sein. Das Budd-Chiari-Syndrom und die Venenverschlusskrankheit stellen als Vertreter der vaskulären Erkrankungen genauso eine Ursache für das ALF dar, wie die Autoimmunhepatitis oder die Graft-versus-Host-Reaktion als Vertreter der immunologischen Erkrankungen. Auch das HELLP-Syndrom und die Schwangerschaftsfettleber können selten ein ALF bedingen [30].

1.3 Klinik und Komplikationen

Klinisch äußert sich das ALF zunächst nur durch unspezifische Symptome (Abgeschlagenheit, Fieber, Abdominalschmerz). Mit zunehmender Schwere des ALF kommen ein Ikterus und HE hinzu. Durch die abnehmende Synthese- und Stoffwechsellistung der Leber kommt es zu einer hämorrhagischen Diathese. Der zunehmende Mangel an Gerinnungsfaktoren führt zu einer disseminierten intravasalen Gerinnung. Durch das anfallende Ammoniak entwickelt sich der typische Foetor hepaticus. Eine vasodilatativ bedingte Hypotonie und eine Hyperventilation sind ebenfalls als Folge des anfallenden Ammoniaks anzusehen [21].

In der laborchemischen Analyse zeigt sich die nachlassende Lebersyntheseleistung durch erniedrigte Gerinnungsfaktoren, Thrombozytopenie, sowie Hypokaliämie und Hypoglykämie. Durch die verminderte Harnstoffsynthese und den verminderten Bikarbonatverbrauch kommt es häufig zu einer metabolischen Alkalose. Aus dem Leberzellzerfall resultiert eine Erhöhung der Transaminasen (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase [GOT], Glutamat-Pyruvat-Transaminase [GPT], Gamma-Glutamyl-Transferase [GGT]). Durch die nachlassende Stoffwechsellistung kommt es zur Erhöhung der Bilirubin- und Ammoniakwerte.

1.4 Therapie

Die Therapie des ALF sollte zunächst kausal erfolgen. So sollte bei einer Paracetamolintoxikation möglichst schnell das Antidot N-Acetylcystein verabreicht werden. Auch bei anderen Ursachen steht die kausale Therapie im Vordergrund. Virale Infektionen sollten möglichst schnell antiviral therapiert werden. Weitere kausale Therapien stellen unter anderem die Glucocorticoidgabe bei Autoimmunhepatitis oder eine Sectio bei HELLP-Syndrom dar.

Neben der kausalen Therapie steht die symptomatische und supportive Intensivtherapie an zweiter Stelle. Hier sollte vor allem die Überwachung des intrakraniellen Drucks (engl. intracranial pressure, ICP) erfolgen. Desweiteren sollten Elektrolyte, Glucose und Gerinnungsfaktoren substituiert werden. Bei einem akuten Nierenversagen sollte der Patient hämodialysiert werden. Ein temporärer Ersatz der Leberfunktion bei potenziell reversiblen ALF bis zur Regeneration der eigenen Leber ist die auxiliäre partielle orthotope Lebertransplantation (LTx). Dabei wird der linke Leberlappen des Patienten durch ein Spendertransplantat ersetzt. In klinischer Erprobung befinden sich derzeit die Hepatozytentransplantationen. Diese dienen als Überbrückungsmaßnahme bis zur LTx. Extrakorporale Detoxikationen wie MARS (molecular adsorbent recirculating system) kommen bei ALF-Patienten regelmäßig zum Einsatz [21].

Die derzeit einzige kurative Therapie stellt die LTx dar. Aus diesem Grund sollte jeder Patient möglichst schnell in ein Transplantationszentrum verlegt werden. Da ein ALF die Einstufung als dringlich (HU, high urgency) erlaubt, sollten alle Untersuchungen für eine Listung schnellstmöglich durchgeführt werden und mögliche Kontraindikationen einer Transplantation ausgeschlossen werden.

1.5 Prognose

Die Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2012 ergab, dass 357 Menschen nach dem ICD-10 K72 (LV, andernorts nicht klassifiziert), bzw. 85 Menschen nach dem ICD-10 K72.0 (akutes und subakutes LV) 2012 verstorben sind. Des Weiteren zeigt der Bericht für 2012, dass 4559 Menschen nach dem ICD-10 K72, bzw. 2929 Menschen nach dem ICD-10 K 72.0 diagnostiziert wurden.

Nach der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) wurden 2012 in der Bundesrepublik Deutschland 1097 postmortale LTx durchgeführt. Bei 134

dieser 1097 LTx im Jahre 2012 war die Indikation nach ICD-10 K72.0 akutes und subakutes LV.

Aufgrund der hohen Diskrepanz zwischen durchgeführten LTx und an ALF erkrankten Patienten ist es von immenser Bedeutung, die Patienten nach Dringlichkeit einer LTx einzuordnen. Hierfür stehen verschiedene Prognosesysteme zur Verfügung. Allerdings haben alle Prognosesysteme dasselbe Defizit: Es handelt sich um Aufnahmewerte. Es lässt sich kein Verlauf erheben, da unter der intensivmedizinischen Therapie eine Normalisierung der für die Erhebung der Prognosesysteme benötigten Parameter angestrebt wird.

1.5.1 MELD-Score

Der MELD-Score (engl. Model for End-Stage Liver Disease) ist ein Prognosesystem, mithilfe dessen der Schweregrad einer Lebererkrankung bestimmt werden kann. Ursprünglich wurde der MELD-Score entwickelt, um die Mortalität innerhalb von drei Monaten bei Patienten mit TIPS (transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt) vorherzusagen [33]. Heute wird der MELD-Score von Eurotransplant und UNOS (United Network for Organ Sharing) verwendet, um die Dringlichkeit einer LTx zu bestimmen [25, 26].

Um den MELD-Score zu ermitteln, werden folgende Serumparameter des Patienten benötigt: Bilirubin gesamt, Kreatinin und Blutgerinnungszeit mittels INR (international normalized ratio for prothrombin time).

Der MELD-Score errechnet sich mittels folgender Formel [26]:

$$\begin{aligned} MELD = 10 \times (0,957 \times \ln(\text{Serumkreatinin}) + 0,387 \times \ln(\text{Bilirubin gesamt}) \\ + 1,12 \times \ln(INR) + 0,643) \end{aligned}$$

Wurde innerhalb der letzten sieben Tage mindestens zweimal eine Dialyse durchgeführt, ist das Serumkreatinin definitionsgemäß bei 4,0 mg/dl.

Gemessene Serumwerte < 1,0 gehen mit 1,0 in die Berechnung, da ansonsten negative Werte herauskommen würden.

Der MELD-Score wird immer auf ganze Zahlen gerundet und liegt zwischen sechs und 40 Punkten. Mittels MELD-Score lässt sich die Dreimonatsmortalität hospitalisierter Patienten ermitteln [53]:

Ein MELD-Score von über 29 Punkten und eine zeitgleich vorliegende Enzephalopathie Grad III oder IV zum Zeitpunkt der Erhebung, gehen mit dem Tod des Patienten im Verlauf ein [35].

MELD-Score	Dreimonatsmortalität
≥ 40	71,3 %
30 – 39	52,6 %
20 – 29	19,6 %
10 – 19	6 %
< 9	1,9 %

Tabelle 1: MELD-Score und Dreimonatsmortalität

Beim *modifizierten MELD-Score* wird anstelle des Serumbilirubins die Serum CK-18 / M 65 verwendet. Dieses Enzym ist ein Marker für hepatische Nekrosen und ist schon bei der akuten Schädigung erhöht. Bilirubin ist kein früher Marker der Leberschädigung, da es erst später im Verlauf ansteigt. Die Serum CK-18 / M 65 hat im akuten Ereignis eine höhere Spezifität und Sensitivität als das Serumbilirubin [4].

1.5.2 King's College Kriterien

1989 haben O'Grady und seine Kollegen der King's College School of Medicine die King's College Kriterien definiert. Sie haben 588 Patienten retrospektiv untersucht, die zwischen 1973 und 1985 im King's College Hospital aufgrund eines ALF behandelt wurden [39]. O'Grady und seine Kollegen haben ein Prognosesystem anhand klinischer Kriterien erstellt, mithilfe dessen die Mortalität abgeschätzt werden kann.

Die King's College Kriterien werden in zwei Kategorien unterteilt [39]:

1. *Paracetamol-induziertes ALF*

Patientengruppen mit schlechter Prognose:

- Arterieller pH < 7,3
- Serumkreatinin > 300 µmol/l, INR > 6,5 und Enzephalopathie Grad III – IV

2. *Nicht-Paracetamol-induziertes ALF*

(viele Ursachen, u.a. Virushepatitiden, Virusinfektionen, Autoimmunhepatitis etc.)

Patientengruppen mit schlechter Prognose:

- INR > 6,5
- oder drei der folgenden Kriterien:
- Patientenalter < 11 oder > 40 Jahre
- Serumbilirubin > 300 mmol/l
- > 7 Tage zwischen Ikterus und Enzephalopathieentwicklung
- INR > 3,5
- Medikamententoxizität (unabhängig von der ALF-Ursache)

Der positive prädiktive Wert der ALF-Mortalität bei Erhebung der King's College Kriterien liegt zwischen 70 und 100 % [1, 43, 45]. Die American Society for Study of Liver Diseases empfiehlt die King's College Kriterien als guten

Parameter, um ALF-Patienten nach Dringlichkeit einer LTx zu klassifizieren [43]. Allerdings gilt das nur für den unbehandelten Patienten, da auf der Intensivstation die entgleisten Parameter normalisiert werden.

1.5.3 APACHE II-Score

Der APACHE II-Score ist in seiner Sensitivität bezüglich der ALF-Mortalität vergleichbar mit der der King's College Kriterien [3].

Mit dem APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) lässt sich der Krankheitsschweregrad von Erwachsenen bei der Aufnahme auf die Intensivstation (ICU, intensive care unit) erheben. Allerdings gibt es keine zuverlässigen Daten für Kinder unter 16 Jahren [28].

Der APACHE II-Score wird mittels der folgenden zwölf Parameter erhoben:

1. Alter des Patienten
2. Temperatur, rektal gemessen
3. MAP (mittlerer arterieller Druck)
4. Arterieller pH
5. HF (Herzfrequenz)
6. AF (Atemfrequenz)
7. Natriumkonzentration im Serum
8. Kaliumkonzentration im Serum
9. Kreatinin im Serum
10. Hämatokrit
11. Leukozytenzahl
12. GCS (Glasgow Coma Scale)

Der APACHE II-Score wird innerhalb der ersten 24 Stunden nach Aufnahme auf die ICU ermittelt und im Verlauf nicht wiederholt, da es sich definitionsgemäß um einen Aufnahmewert handelt.

Der *APACHE III-Score* stellt eine Erweiterung des APACHE II dar und beinhaltet unter anderem auch die Ursache für den ICU-Aufenthalt des Patienten, das Geschlecht, die Rasse und dessen Komorbiditäten [29].

Der MELD-Score und die King's College Kriterien sind gängige Prognosesysteme für das ALF.

Der APACHE-Score wird hingegen selten benutzt.

Fikatas et. al [14] haben die verschiedenen Prognosesysteme miteinander verglichen und sind zu dem Schluss gekommen, dass der APACHE III-Score dem MELD-Score, den King's College-Kriterien und dem APACHE II-Score überlegen ist [14].

1.5.4 Clichy-Kriterien

Die Clichy-Kriterien gehören ebenfalls zu denjenigen Kriterien, nach denen ein Überleben bei ALF ohne LTx unwahrscheinlich ist.

Zu den Clichy-Kriterien gehört [6]:

- hepatische Enzephalopathie Grad III-IV und
- Faktor V < 30 % (Patienten über 30 Jahre)
- Faktor V < 20 % (Patienten unter 30 Jahre).

Allerdings hat der MELD-Score noch immer die beste prognostische Genauigkeit bezüglich des tödlichen Ausgangs eines ALF im Vergleich zu den King's College Kriterien und den Clichy-Kriterien [35].

1.5.5 BiLE-Score

Der BiLE-Score wurde 2008 von Hadem et. al [20]. publiziert und berechnet sich folgendermaßen:

$$\frac{\text{Bilirubin } (\mu\text{mol/l})}{100} + \text{Laktat } (\text{mmol/l})$$

+ 4 (*kryptogenes ALF, Budd – Chiari – Syndrom, Phenprocoumintoxikation*)

– 2 (*für Paracetamolintoxikation*)

± 0 (*andere ALF – Ätiologien*)

Hadem seine Forschungsgruppe hat 102 Patienten retrospektiv untersucht, die im Zeitraum von 1996 bis 2005 an der Medizinischen Hochschule Hannover aufgrund eines ALF behandelt wurden. Dabei haben sie den BiLE-Score mit dem MELD-Score und den King's-College-Kriterien verglichen. Es zeigte sich, dass der BiLE-Score die besten Voraussagen über ein schlechtes Überleben in der Patientenkohorte trifft. Allerdings muss diese Beobachtung noch durch eine prospektive Untersuchung bestätigt werden [20].

1.6 Fragestellung

Meine vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit der Frage, den Zeitpunkt zu definieren, ab dem eine Leberregeneration unwahrscheinlich ist und eine LTx die alleinige kurative Therapie darstellt. Insbesondere in Ermangelung an präzisen existierenden Score-Systemen sollen neue Parameter für die Vorhersage eines letalen Ausgangs ermittelt werden.

Die zugrundeliegenden Versuche wurden an einem Schweinmodell durchgeführt. Dieses Modell wurde gewählt, da Schweine der menschlichen Physiologie und dem menschlichen Metabolismus sehr ähnlich sind. Aufgrund dieser Eigenschaft sind die Ergebnisse dieser Studie auf den Menschen übertragbar [15].

Um das ALF in unserem Schweinmodell herbeizuführen, nutzten wir das Medikament Paracetamol [47]. Auch andere Medikamente oder Gifte (zum Beispiel Amanitin [48]) können das ALF herbeiführen. Neben der chemischen Herbeiführung des ALF gibt es noch zwei weitere Möglichkeiten: Zum einen mittels chirurgischer Intervention durch partielle oder totale Hepatektomie [2, 46] oder zum anderen mittels Infektion durch Parasiten oder Viren [41].

Im Rahmen dieser Versuchsreihe wurden der portale Blutfluss (engl. Portal blood flow, PBF), die Anzahl der Thrombozyten und der Splachnicuswiderstandsindex betrachtet. In den bis dato angewandten Verfahren für die Einschätzung der LTx als alleinige lebensrettende Therapie, wurden keine der hier genannten Parameter berücksichtigt [6, 20, 26, 28, 29, 39].

Um neue Entscheidungskriterien zur LTx zu finden, erfolgte die systematische Auswertung des PBF, der Thrombozytenzahl und des Splachnicuswiderstandsindexes.

2 Material und Methoden

2.1 Tierschutz

Die Studie wurde entsprechend der gesetzlichen Vorschriften durch den Tierschutzbeauftragten der Universität Tübingen der Tierschutzkommission des Regierungspräsidiums Tübingen gemeldet (§ 4 Abs. 3 des Tierschutzgesetzes). Eine Genehmigung erfolgte unter AZ C 3/09. Die Pflege und Behandlung der Tiere wurde gemäß den geltenden europäischen Tierschutzrichtlinien durchgeführt. Ein Veterinärmediziner bestimmte die Richtlinien, um ein Leiden der Tiere zu vermeiden.

2.2 Tiermodell, Prämedikation und Anästhesie

Die Studie wurde an acht weiblichen Schweinen der deutschen Landrasse mit einem Gewicht von 38 ± 4 kg durchgeführt. Die Versuchstiere wurden unter standardisierten Bedingungen gehalten. Am OP-Tag bestand Nahrungskarenz, Wasser ad libitum.

Die intramuskuläre Prämedikation erfolgte mit Atropinsulfat 0,1 % 0,05 mg/kg Körpergewicht (KG) (Atropinsulfat Br®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen), Ketaminhydrochlorid 100 mg/ml 7 mg/kg KG (Urostamin®, Serumwerk, Bernburg), Azaperone 10 mg/kg KG (Stresnil®, Bayer Vital, Leverkusen) und Midazolamhydrochlorid 1 mg/kg KG (Midazolam-ratiopharm®, Ratiopharm, Ulm).

Die Schweine wurden durch einen Veterinärmediziner mittels Manschettentubus (Lo-Contour™ Magill, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland) endotracheal intubiert. Im Anschluss wurde eine Magensonde (Argyle™, Tyco

Healthcare, Tullamore, Irland) zur Entlastung gelegt. Als intravenöser Zugang wurde zunächst in beide Ohrvenen jeweils ein 18 gauge Venenverweilkatheter (Vasofix®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) gelegt. Später erfolgte die operative Einbringung eines zentralvenösen Katheters.

Die Beatmung erfolgte druckkontrolliert mittels Beatmungsgerät (Kion, Siemens Medical, Schweden). Hierbei wurde ein Tidalvolumen von 6-12 ml/kg KG und eine Atemfrequenz von 8-15 Atemzügen pro Minute angestrebt. Die Parameter wurden entsprechend der Blutgasanalysen (BGA) angepasst.

Die kontinuierliche intravenöse Anästhesie bestand aus Ketaminhydrochlorid 100 mg/ml 15 mg/kg KG/h (Urostamin®, Serumwerk, Bernburg), Fentanyl 50 µg/ml 0,02 mg/kg KG/h (Fentanyl-ratiopharm®, Ratiopharm, Ulm) und Midazolamhydrochlorid 5 mg/ml 0,9 mg/kg KG/h (Midazolam-ratiopharm®, Ratiopharm, Ulm). Mittels den Beatmungsparametern, HF, Augenbewegungen und Schmerzreizen wurde eine ausreichende Narkosetiefe sichergestellt. Sobald nur einer der genannten Parameter auf eine nicht ausreichende Narkosetiefe schließen ließ, wurden die Laufraten der Anästhetika erhöht.

Eine Körpertemperatur von $38,0 \pm 0,5$ °C war bis zum ALF das Ziel. Aufgrund der kontinuierlichen Hämofiltration und des ALF, fiel die Körpertemperatur im weiteren Verlauf auf $36,0 \pm 0,5$ °C ab.

Eine antibiotische Prophylaxe aus 2 g Ceftriaxon (Rocephin®, Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz) wurde präoperativ verabreicht und täglich alle 24 Stunden wiederholt.

2.3 Chirurgisches Vorgehen

2.3.1 Platzierung der Gefäßkatheter und Hirndrucksonde

Eine Jugularvene und eine Femoralvene wurden kanüliert (Dolphin GamCath Double Lumen Central Venous Catheter, Gambro, Hechingen, Deutschland), um den zentralvenösen Druck (ZVD) kontinuierlich zu messen und die Anästhetika intravenös zu applizieren. Die Femoralarterie wurde kanüliert (Pulsiocath 5F thermodilutions catheter, PULSION Medical Systems AG, München, Deutschland), um den MAP kontinuierlich zu messen. Nach einer parietofrontalen Trepanation wurde eine Messsonde (Neurovent-P-PTO, Raumedic AG, Münchberg, Deutschland) in das Frontalhirnparenchym eingebracht, um den ICP zu messen.

2.3.2 Platzierung der Dopplerflusssonde

Das Abdomen wurde mittels einer medianen Laparotomie eröffnet. Die Pfortader wurde freipräpariert und eine 10°mm perivaskuläre Dopplerflusssonde (Medi-Stim, Oslo, Norwegen) wurde um die Pfortader gelegt (Abbildung 1).

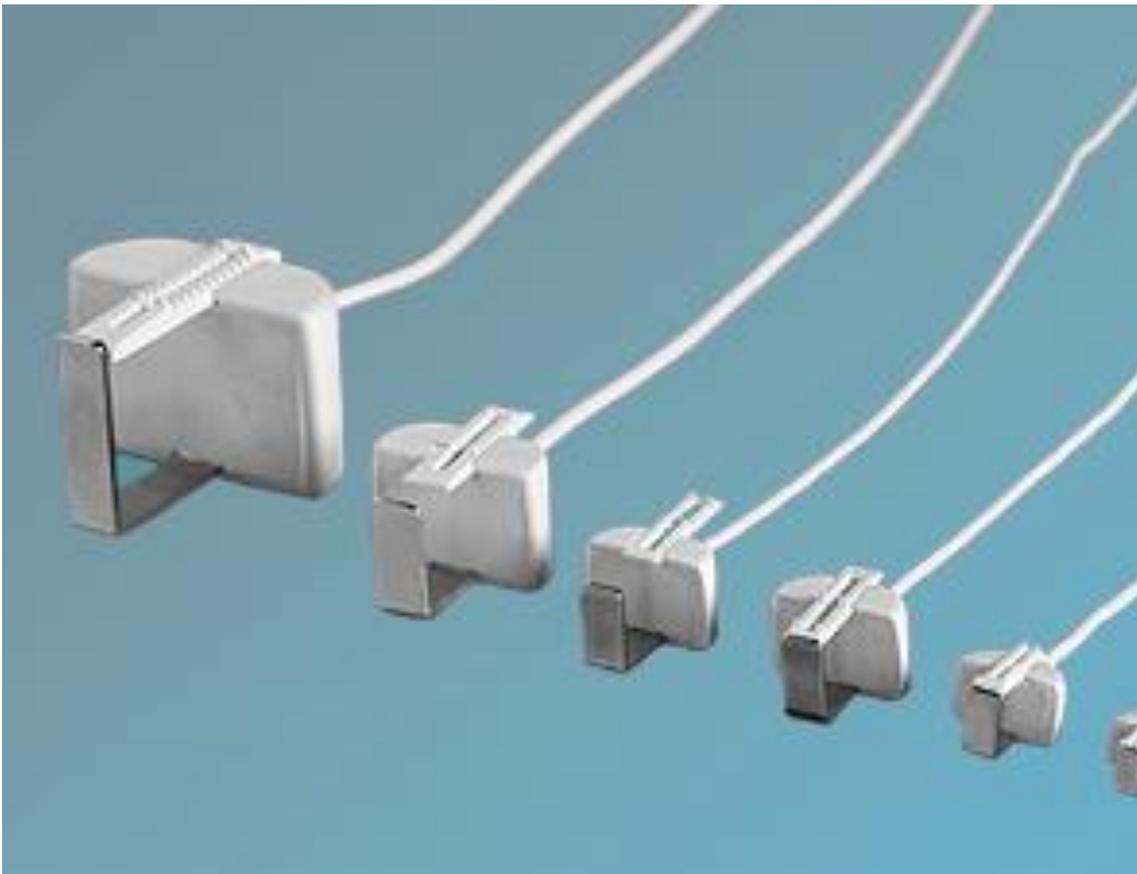


Abbildung 1: PeriVascular-Dopplerflussmesssonden (Medi-Stim, Oslo, Norwegen)
Quelle: <http://www.medistim.com>

2.3.3 Platzierung des Jejunalkatheters

Ein Jejunalkatheter (Gentle-Flo™, Tyco Healthcare, Tullamore, Irland) wurde im Bereich des oberen Jejunums für die enterale Paracetamolgabe eingebracht. Ein 14F-Urinkatheter (Rüsch Care, Kernen, Deutschland) wurde mittels Zystostomie gelegt. Anschließend wurde das Abdomen mit einer fortlaufenden Naht verschlossen.

2.4 Paracetamolintoxikation und ALF

Zwei (2/8) Schweine repräsentierten die *operierte Sham-Kontrollgruppe* und erhielten keine Paracetamolintoxikation.

Mittels der Dosierung, der Art der Verabreichung und der Paracetamolkonzentration im Blutplasma lässt sich eine reproduzierbare ALF-Manifestation nach intrajejunaler Paracetamolintoxikation kontrollieren. Dies wurde bereits im Detail beschrieben [47].

Sechs Schweine (6/8) erhielten einen initialen enteralen Paracetamolbolus von 250 mg/kg KG durch den eingebrachten Jejunalkatheter. Die Intoxikation wurde zunächst mittels einer stündlichen, enteralen Erhaltungsdosis von 2.000 mg fortgesetzt. Die Paracetamolplasmaspiegel wurden alle vier Stunden erfasst und anhand dieser wurde die Paracetamolerhaltungsdosis von (1.000-3.000 mg) angepasst. Angestrebt wurde ein Paracetamolplasmaspiegel von 300-450 mg/L.

Die Manifestation des ALF wurde durch das Vorhandensein einer Koagulopathie definiert. Per definitionem ist dies bei einem Quickwert < 30 %. Eine weitere Paracetamolzufuhr wurde gestoppt. Weitere Bestätigungshinweise für die Manifestation des ALF sind ein leicht erhöhter ICP, katecholaminpflichtige hämodynamische Veränderungen und ein Abfall der Diurese bis zum einsetzenden Nierenversagen im weiteren Verlauf des ALF.

2.5 Standardisierte intensivmedizinische Betreuung

Alle Versuchstiere (8/8) verblieben in tiefer Narkose und wurden bis zum Ende des Studienprotokolls druckkontrolliert beatmet. Wichtige Vitalparameter wie ein Elektroenzephalogramm (EEG), Elektrokardiogramm (EKG), HF, MAP, ZVD, portalvenöser Druck (LAP), PBF, Körperkerntemperatur (rektal gemessen),

intrakranielle Temperatur, ICP, intrakranieller Sauerstoffpartialdruck und periphere Sauerstoffsättigung (SpO₂) wurden kontinuierlich bis zum Tod der Versuchstiere elektronisch erfasst und in einer Datenbank gespeichert. Die Urinmenge wurde stündlich ermittelt. Arterielle Blutgasanalysen (BGA, ABL 800, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) enthielten eine Untersuchung von Hämoglobin (Hb), Methämoglobin (Met-Hb), Hämatokrit (Hk), Laktat, Serumelektrolyte, Säurebasenstatus und Blutglukoselevel. Eine arterielle BGA wurde stündlich gemacht und die Beatmungsparameter (Atemfrequenz 12 – 30 Atemzüge/Minute, Tidalvolumen 6 – 12 mL/kgKG und Sauerstoffkonzentration FiO₂ 0,3 – 1,0) wurden der BGA entsprechend sofort angepasst.

Eine Blutentnahme zur laborchemischen Untersuchung erfolgte vor der Paracetamolintoxikation, sowie danach alle acht Stunden und zum Todeszeitpunkt.

Die intensivmedizinische medikamentöse Behandlung und das Protokoll des standardisierten Flüssigkeitsmanagements wurden bereits im Detail erläutert [46, 47]. Damit wurde eine hämodynamische Stabilität der Versuchstiere sichergestellt.

Nach Manifestation des ALF wurden vier fresh-frozen Plasma (Gefrierplasma, FFP) aus Schweineblut (300 mL/Einheit) innerhalb von 24 Stunden verabreicht, um spontane Blutungskomplikationen zu vermeiden. Erythrozytenkonzentrate (EK) aus Schweineblut (300 mL/Einheit) wurden verabreicht, sobald der Hb unter 6 g/dL fiel.

Alle 24 Stunden nach Beginn der Paracetamolintoxikation und zum Todeszeitpunkt wurden Leberbiopsien mittels chirurgischer Exzision entnommen.

Klarer Aszites (500-1.500 mL) wurde in der intoxikierten Gruppe während der Leberbiopsie abgesaugt. Weder der Verlauf des Pfortaderflusses, noch die Beatmungsdrücke wurden wesentlich durch die Aszitesentfernung beeinflusst.

Der Todeszeitpunkt wurde definiert als ein MAP-Abfall unter 35 mmHg bei einer maximalen blutdrucksteigernden Therapie mittels Katecholaminen und Volumen.

Die Sham-Tiere wurden nach 72 Stunden Überleben nach Operationsende mittels eines einmaligen intravenösen Bolus von 10 mL T 61 (Firma Intervet, Unterschleißheim, Deutschland) getötet.

2.6 Kontinuierliche venovenöse Hämofiltration

Nach Manifestation des ALF wurde eine kontinuierliche venovenöse Hämofiltration bei allen Versuchstieren der Intoxikationsgruppe (6/6) angeschlossen. Dem Zeitpunkt der ALF-Manifestation entsprechend wurde 24 Stunden nach Versuchsbeginn eine kontinuierliche Hämofiltration bei beiden Sham-Tieren (2/2) begonnen.

Das Gerät zur renalen Unterstützung bestand aus einem Prismaflex®-System (Gambro, Hechingen, Deutschland), das mit medizinisch klassifizierten Polyvinylchloridröhren und einem TF 1000 PRE SET Membranfilter (Gambro Industries, Meyzieu, Frankreich) ausgestattet war. Das Gerätesystem wurde gewaschen, den Herstellervorgaben entsprechend vorbereitet und mit dem rechten femoralen Doppellumenkatheter verbunden. Die Hämofiltration lief mit einer mittleren Blutflussrate von 100 mL/min und einer Filtrationsrate von 35 mL/kg KG/h. Der Flüssigkeitsentzug betrug 60 mL/h. 250 IU/h unfraktioniertes Heparin (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) wurden zugeführt um eine Blutgerinnung im Gerätesystem zu verhindern.

2.7 Biochemische Analysen

Alle Proben zur laborchemischen Analyse wurden aus dem arteriellen Katheter entnommen. Ein großes Blutbild, Thrombozytenzahl, PTT, Aspartat-Aminotransferase, Kreatinin, Albumin, Bilirubin, Ammoniak und die Gesamteiweißkonzentration, sowie die Bestimmung des Paracetamolspiegels im Blutplasma wurden im zertifizierten Zentrallabor des Universitätsklinikums Tübingen (Zentrallabor CRONA, Innere Medizin IV, Universitätsklinikum Tübingen, Deutschland) bestimmt. Die Analyse der Blutproben wurde innerhalb einer Stunde nach jedem Abnahmezeitpunkt durchgeführt.

2.8 Histologische Untersuchungen

Die Gewebeproben der Leber wurden mittels Biopsie alle 24 Stunden nach Paracetamolintoxikation und post-mortem gewonnen und in 4 % Formalin fixiert. Ein Teil des Präparates wurde routinemäßig mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Zusätzlich wurde noch eine Ki-67 Immunfärbung mit einer alkalischen Phosphatasefärbung durchgeführt, ebenso eine von-Willebrand-Färbung. Die Schnitte wurden am Ende mit einem Zeiss axiovert 135 Mikroskop (Karl-Zeiss, Jena, Deutschland) untersucht und fotografiert.

2.9 Statistische Auswertung und Berechnung

Die Verläufe der Parameter zu den einzelnen Zeitpunkten wurden mittels Turkey-Kramer HSD (JMP® 8.0, SAS Institute, Cary, NC, USA) verglichen. Ein p-Wert < 0,05 wurde als signifikant angesehen. Die Ergebnisse dieser Dissertationsschrift sind als ein Mittelwert \pm Standardfehler (SEM) angegeben. Die Grafiken zeigen ebenfalls einen Mittelwert \pm Standardfehler (SEM).

Ein Widerstandsindex wurde berechnet, um den Splachnicusgefäßwiderstand zahlenmäßig darzustellen.

$$\text{Widerstandsindex} = \frac{\text{MAP} - \text{ZVD}}{\text{mittlerer Pfortaderfluss}}$$

3 Ergebnisse

3.1 Manifestation des ALF

Alle intoxikierten Tiere (6/6) entwickelten das ALF innerhalb von 28 ± 12 Stunden. Das ALF wurde durch den Abfall des Quickwertes unter 30 % bestätigt. Die Schweine verstarben im weiteren Verlauf des ALF nach 21 ± 4 Stunden unter maximaler intensivmedizinischer Therapie an einem Multiorganversagen (MOV).

Postoperativ lag der Ausgangswert des Quickwertes sowohl bei den intoxikierten, als auch bei den Sham-Tieren, zwischen 60-80 %.

Der Quickwert der intoxikierten Tiere fiel kontinuierlich auf unter 30 % aufgrund der zunehmenden Leberschädigung und definierte mit dem Abfall unter 30 % auch das ALF.

Bei den Sham-Tieren stieg der Quickwert 24 Stunden postoperativ wieder an.

Abbildung 2 zeigt den zeitlichen Verlauf des Quickwertes der intoxikierten und Sham-Tieren zum ALF.

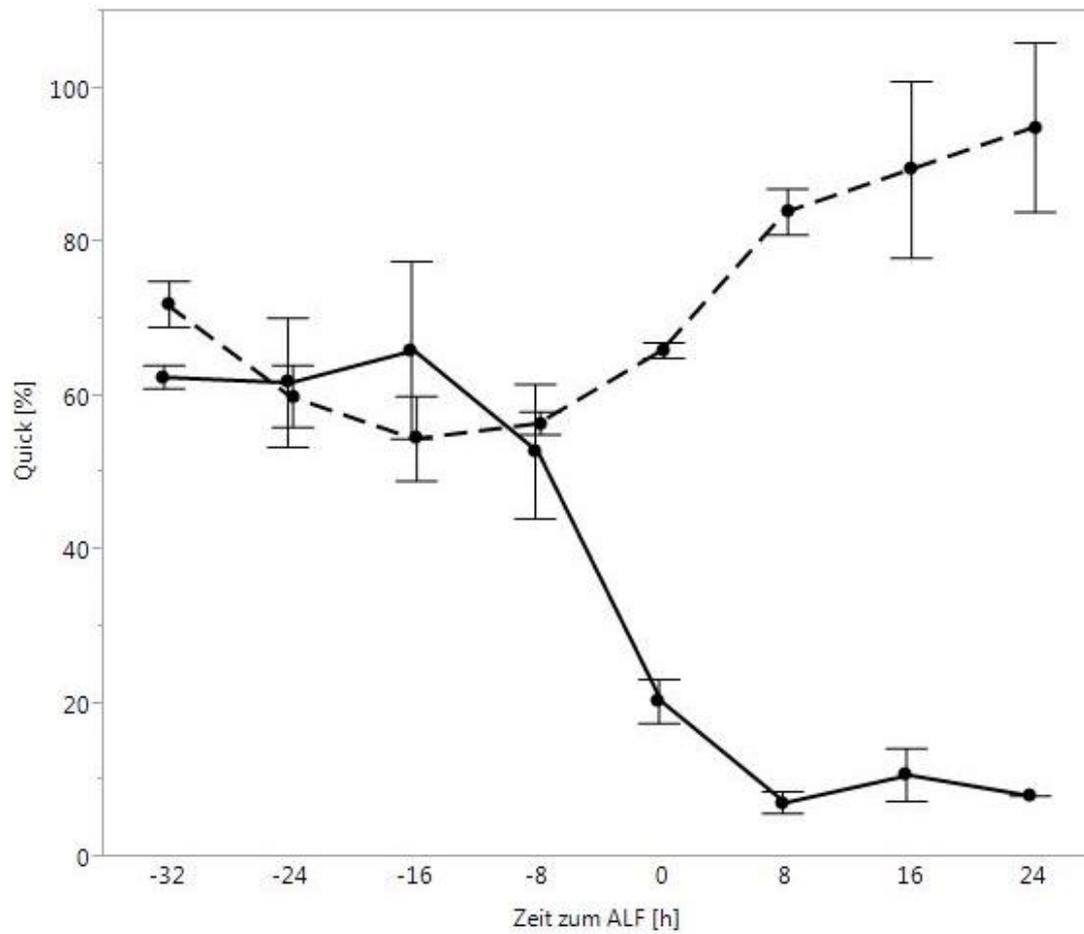


Abbildung 2: Verlauf des Quickwertes der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Während der kritischen Phase der Entwicklung des ALF fiel der MAP bei den intoxikierten Tieren im Mittel um 20 mmHg.

Zehn Stunden vor der Manifestation des ALF fiel aufgrund von hämodynamischen Instabilitäten der MAP ausgehend von 72 mmHg auf 52 mmHg ab. Die Sham-Tiere zeigten einen konstanten Verlauf des MAP (Abbildung 3)

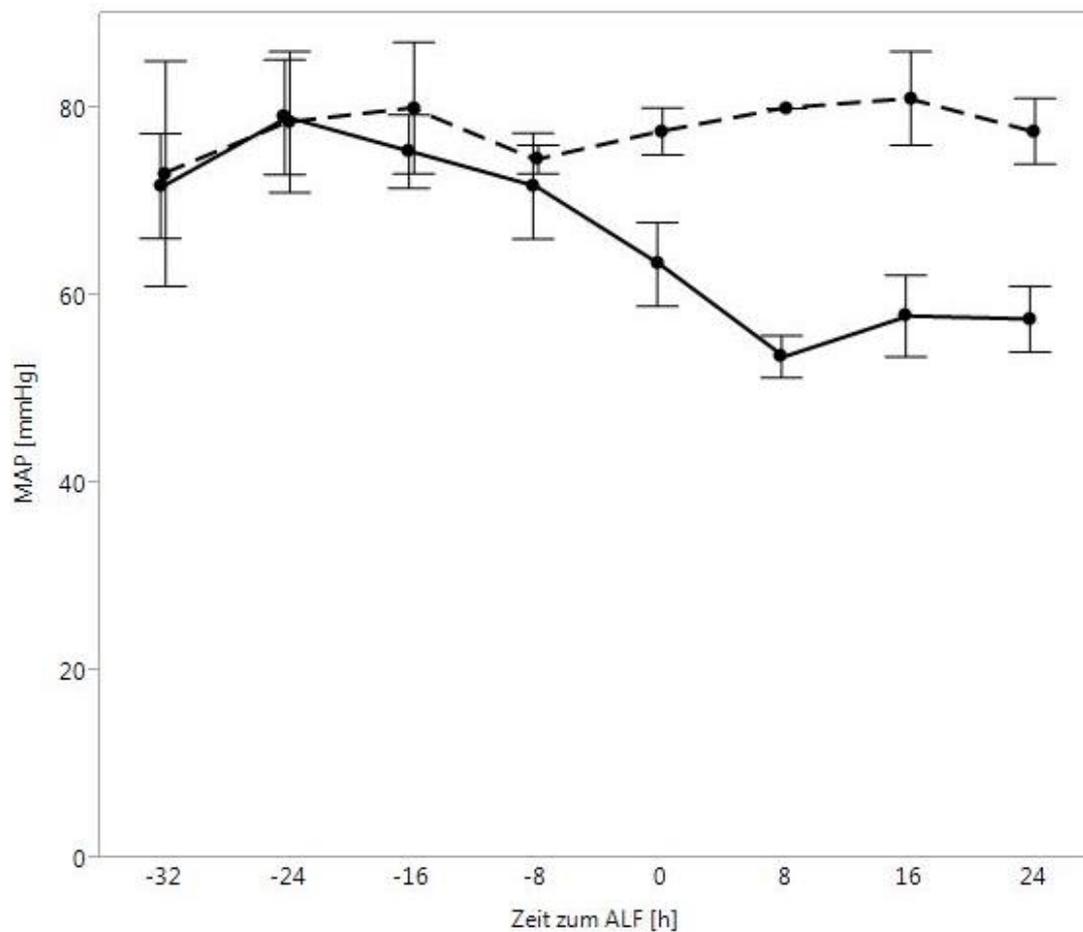


Abbildung 3: Verlauf des MAP der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Der ZVD blieb bis zur Manifestation des ALF konstant bei 10-12 mmHg (Abbildung 4). Anschließend stieg er bei den intoxikierten Tieren bis zu Werten von 28 mmHg an. Die Sham-Tiere zeigten keinen ZVD-Anstieg im Verlauf.

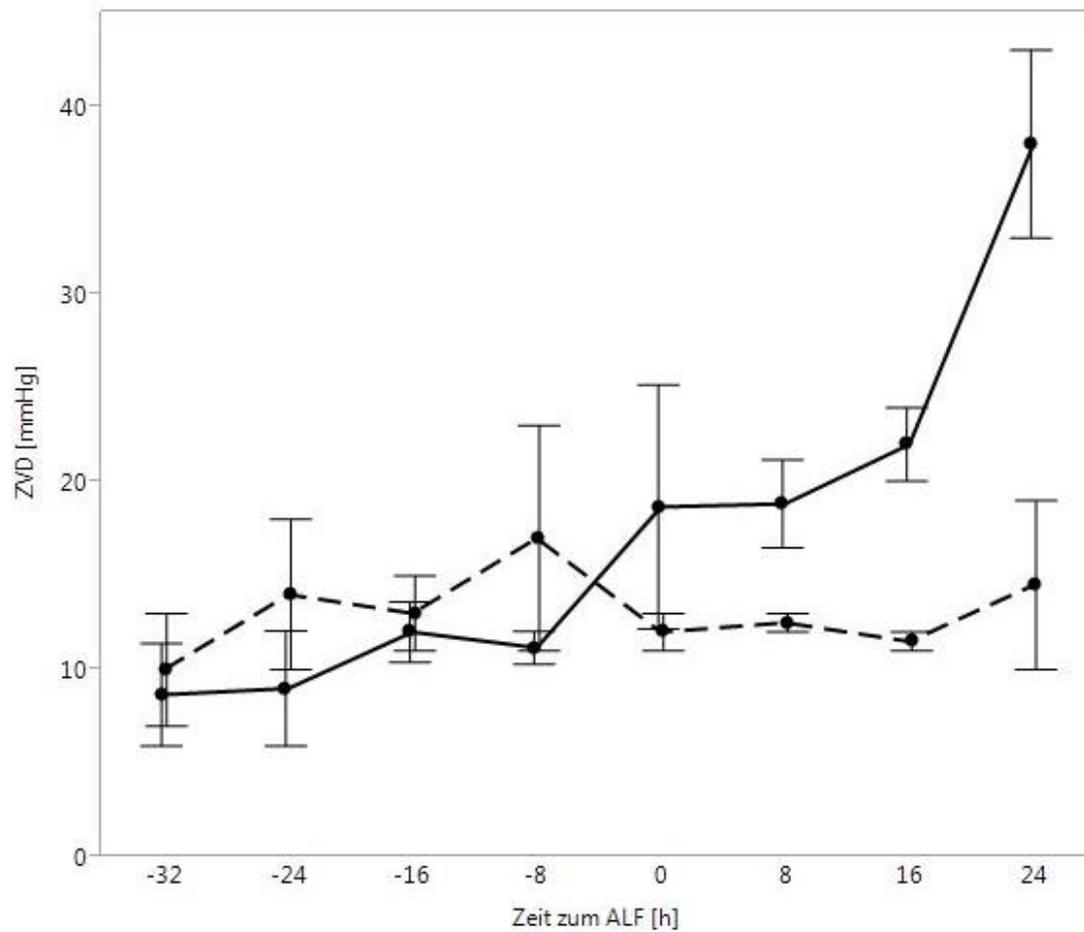


Abbildung 4: Verlauf des ZVD der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Die Volumengabe mittels HAES (Hydroxyethylenstärkelösung) blieb während der Intoxikationsphase konstant bei 350 ml/h (Abbildung 5).

Fünf Stunden vor Manifestation des ALF stieg der Volumenbedarf massiv an und erreichte acht Stunden nach Manifestation des ALF ein Maximum von 1750 ml/h. Im weiteren Verlauf des ALF fiel der Bedarf wieder stetig ab.

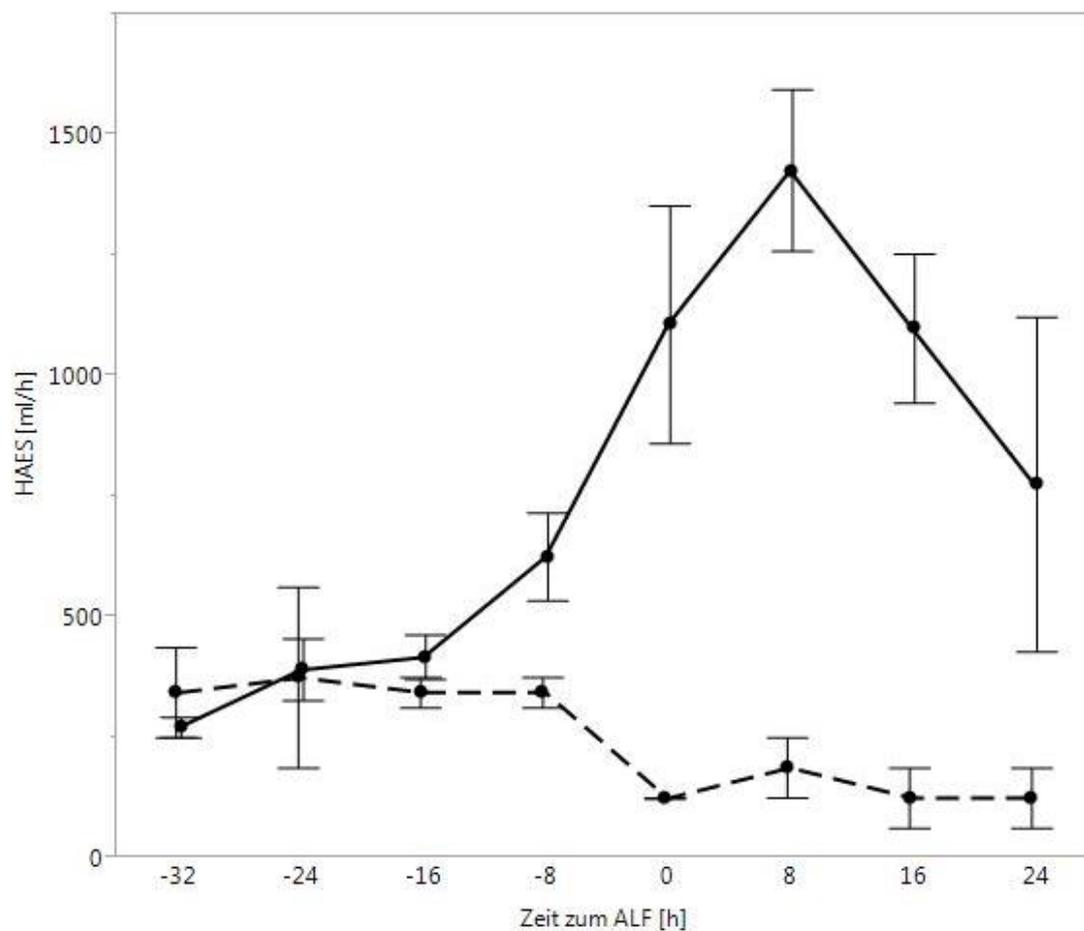


Abbildung 5: Verlauf des infundierten Volumens (HAES) der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Um die intoxikierten Tiere hämodynamisch stabil zu halten, musste mit Beginn der ALF-Manifestation Noradrenalin mit stetig steigender Konzentration infundiert werden (Abbildung 6). Die Sham-Tiere benötigten kein Noradrenalin.

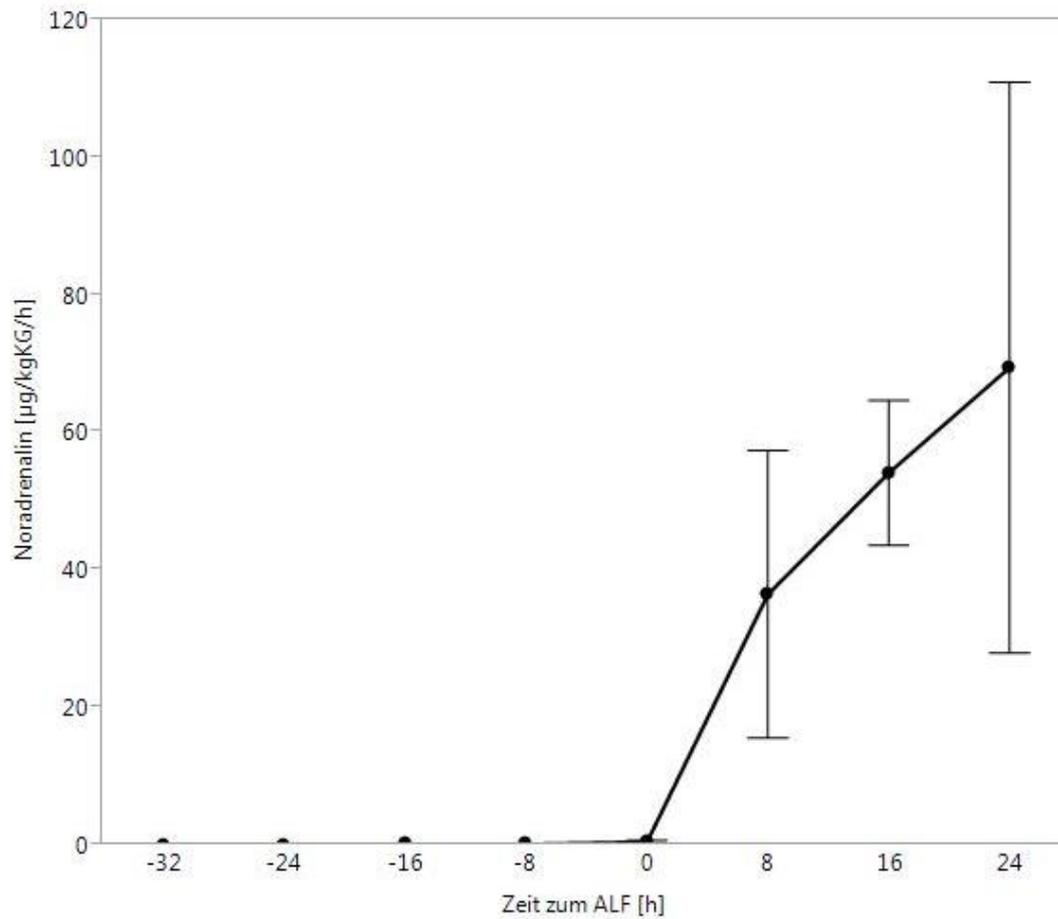


Abbildung 6: Verlauf der infundierten Noradrenalin-Konzentration der intoxikierten Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Der ICP der Tiere startete aufgrund der unnatürlichen Rückenlage bei 20 mmHg. Nach Manifestation des ALF stieg der ICP der intoxikierten Tiere bis auf Spitzenwerte von 30 mmHg an. Der ICP der Sham-Tiere fiel hingegen leicht ab. Den Verlauf des ICP zeigt Abbildung 7.

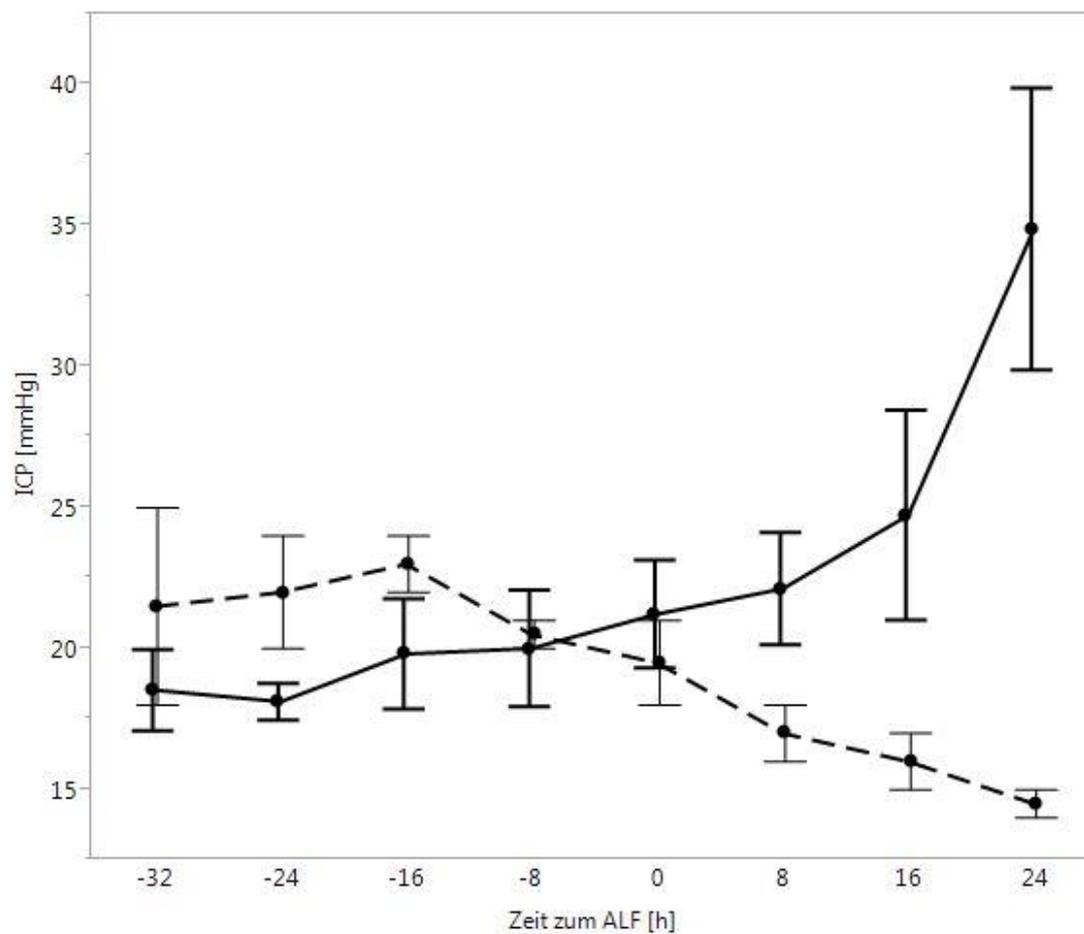


Abbildung 7: Verlauf des ICP der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Alle Tiere starteten zu Beginn der Intoxikation mit einer Körpertemperatur zwischen 37°C und 38°C. Diese Temperatur wurde relativ konstant bis zur ALF-Manifestation gehalten (Abbildung 8).

Die Sham-Tiere hielten ihre Körpertemperatur im weiteren Verlauf konstant. Bei den intoxikierten Tieren kam es nach ALF-Manifestation zu einem Körpertemperaturabfall auf bis zu 33,4°C.

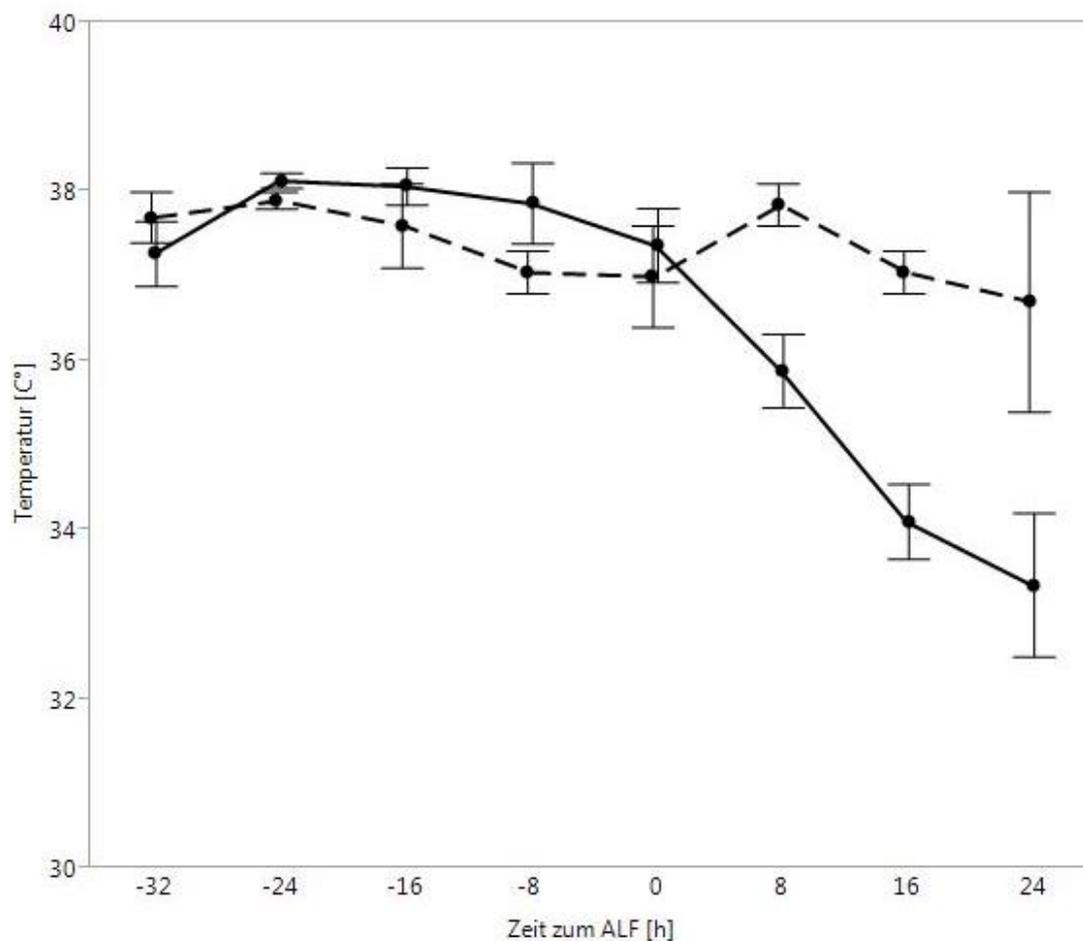


Abbildung 8: Verlauf der Körpertemperatur der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Als Parameter für die Leberzellschädigung wurde alle acht Stunden die Aspartat-Aminotransferase (AST) bestimmt. Im Verlauf zeigte die AST keinen Anstieg der Konzentration, weder bei den Sham-Tieren noch bei den intoxikierten Tieren. Den Verlauf der AST zeigt Abbildung 9.

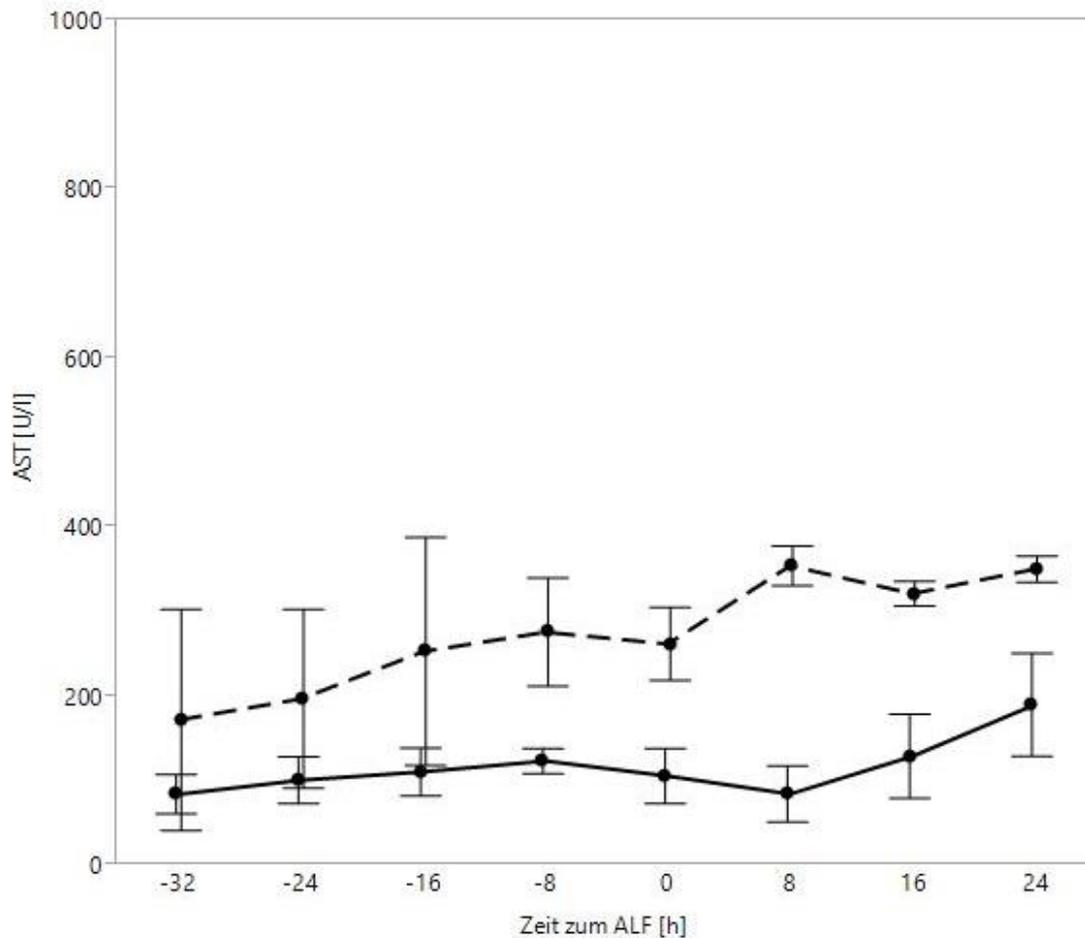


Abbildung 9: Verlauf der AST der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

3.2 Verlauf des mittleren PBF und der Thrombozyten

Der PBF blieb in allen Versuchstieren während der gesamten Versuchsdauer hepatopetal. Während der Paracetamolintoxikation stieg der mittlere PBF von einer Grundlinie von 836 ± 226 mL/min vor Beginn der Paracetamolintoxikation an bis zu einem Spitzenfluss von 1921 ± 377 mL/min zum Manifestationszeitpunkt des ALF. Unmittelbar danach begann der Pfortaderfluss kontinuierlich zu fallen bis zu einem Minimum von 157 ± 197 mL/min zum Zeitpunkt des Todes. Der Abfall direkt nach Manifestation des ALF wurde als signifikant erachtet. Der Verlauf des PBF während der Intoxikation mit Paracetamol und des anschließenden ALF zeigt Abbildung 10.

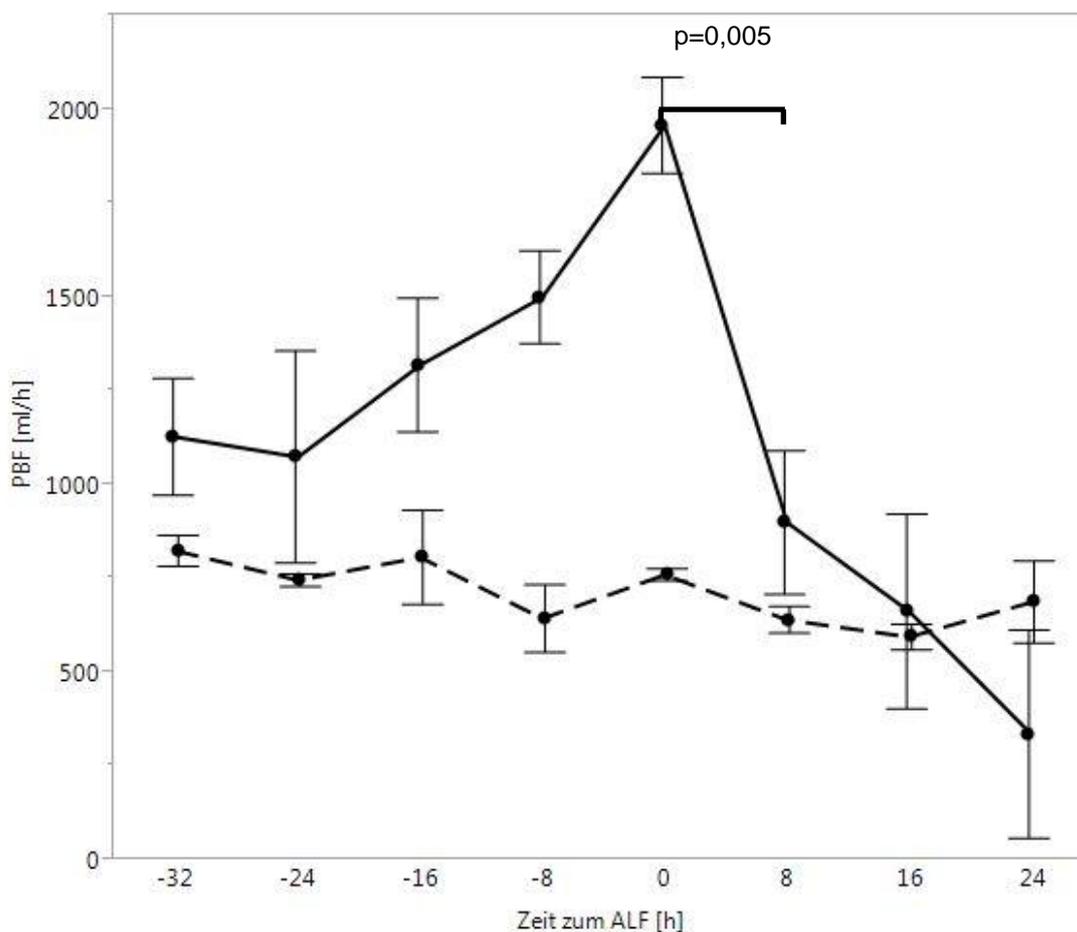


Abbildung 10: Verlauf des PBF der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Die operierten Sham-Tiere hatten einen konstanten mittleren PBF von 900 ± 200 mL/min während des gesamten Beobachtungszeitraums. Demzufolge wurde der PBF nicht durch die kontinuierliche venovenöse Hämofiltration beeinflusst (Abbildung 10).

Die Thrombozytenzahl der intoxikierten Tiere startete bei einer Grundlinie von $304 \pm 120 \times 10^3/\mu\text{L}$ und fiel während des Intoxikationsprozesses auf $159 \pm 134 \times 10^3/\mu\text{L}$ zum Zeitpunkt der ALF-Manifestation (Abbildung 11). Während der Frühphase des ALF resultierte ein zweiter plötzlicher Abfall der Thrombozytenzahl in einer schweren Thrombozytopenie nach 8 Stunden im ALF. Dieser zweite Abfall wurde als signifikant erkannt.

Die Anzahl der Thrombozyten der Sham-Tiere blieb während des gesamten Beobachtungszeitraums unverändert (Abbildung 11).

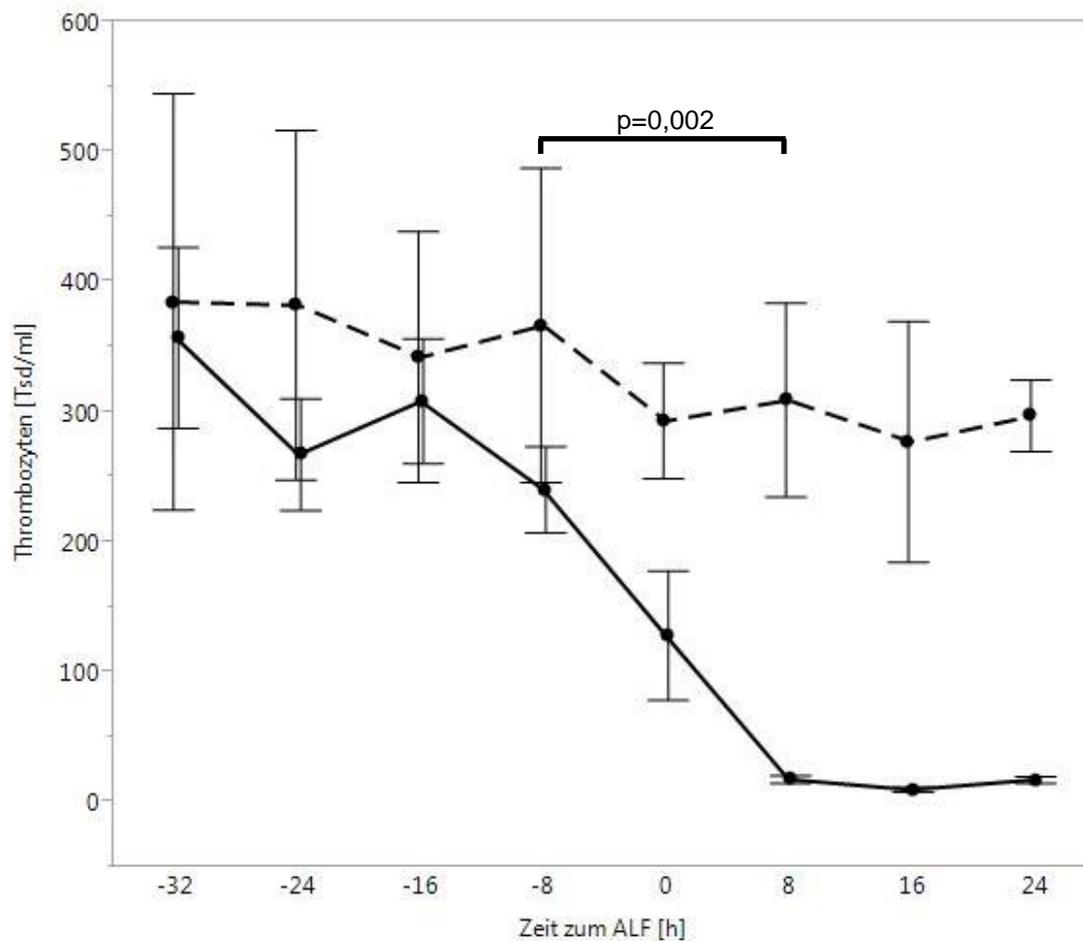


Abbildung 11: Verlauf der Thrombozytenzahl der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

3.3 Verlauf des berechneten Splachnicuswiderstandes

Der Splachnicuswiderstand wurde folgendermaßen berechnet:

$$\text{Widerstand} = \frac{\text{MAP} - \text{ZVD}}{\text{mittlerer Pfortaderfluss}}$$

Dieser sollte Auskunft über den Gefäßwiderstand im Splachnicussystem geben. Der Index fiel nur leicht während der Intoxikationsphase ab. Im weiteren Verlauf

des ALF stieg der Widerstandsindex bis zu 0,26 (mmHg)/(mL/min) an (Abbildung 12).

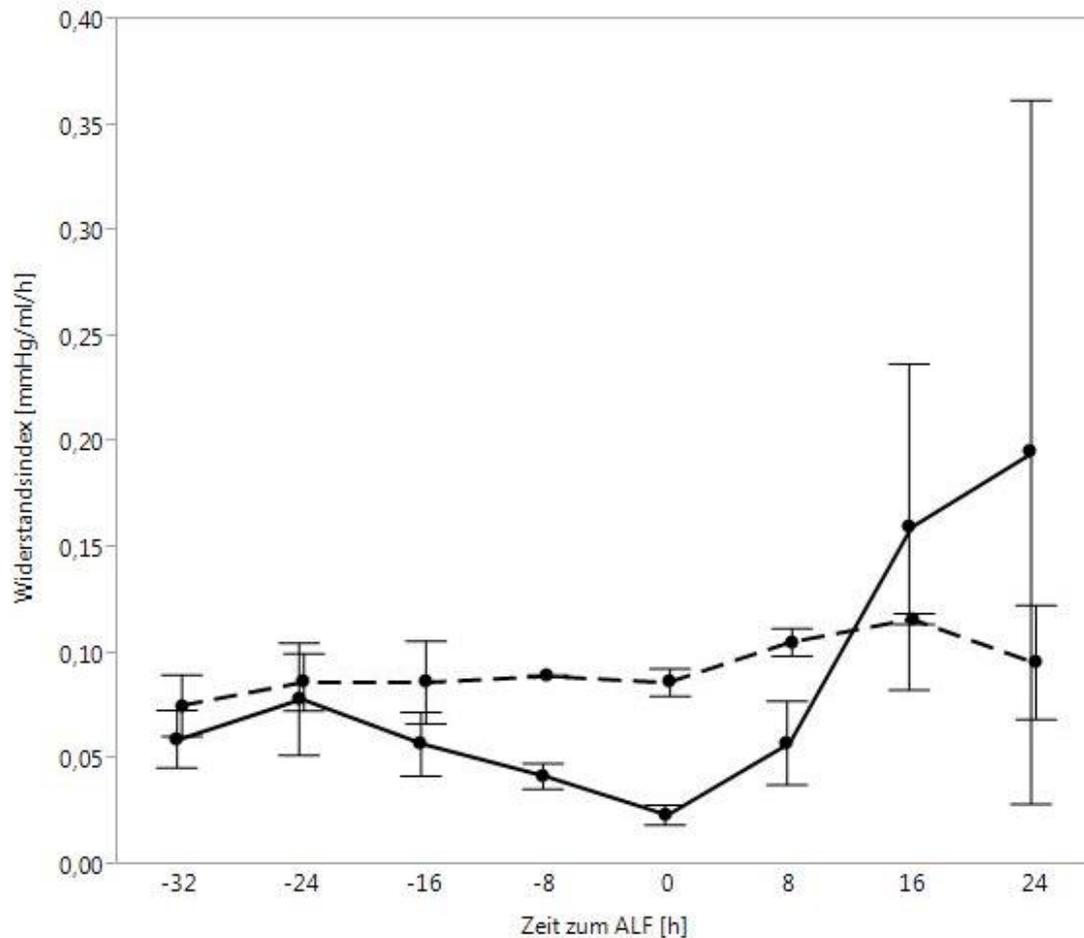


Abbildung 12: Verlauf des Splachnicuswiderstandes der intoxikierten (—) und Sham (- - -) Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Die hämodynamischen Parameter MAP, ZVD und PBF von den beiden Sham-Tieren blieben nahezu unverändert während des gesamten Beobachtungszeitraums von 72 Stunden. Deshalb gab es auch keine Änderungen im Widerstandsindex der Sham-Tiere zu verzeichnen (Abbildung 12).

3.5 Autopsie und histologische Untersuchungen der Leberbiopsien

Bei der Autopsie zeigte sich bei allen intoxikierten Tieren massiver Aszites (2.000–3.000 mL) und eine dunkelblaue nekrotische Leber. Lichtmikroskopische Aufbereitungen (Hämatoxylin-Eosin und Ki-67 Immunfärbung) der Leberbiopsien, die alle 24 Stunden nach Paracetamolintoxikationsbeginn gewonnen wurden, zeigten alle einen vergrößerten Lebersinus mit einer beginnenden zentrilobulären Nekrose. Abbildung 13 zeigt die Leber sechs Stunden nach Manifestation des ALF.

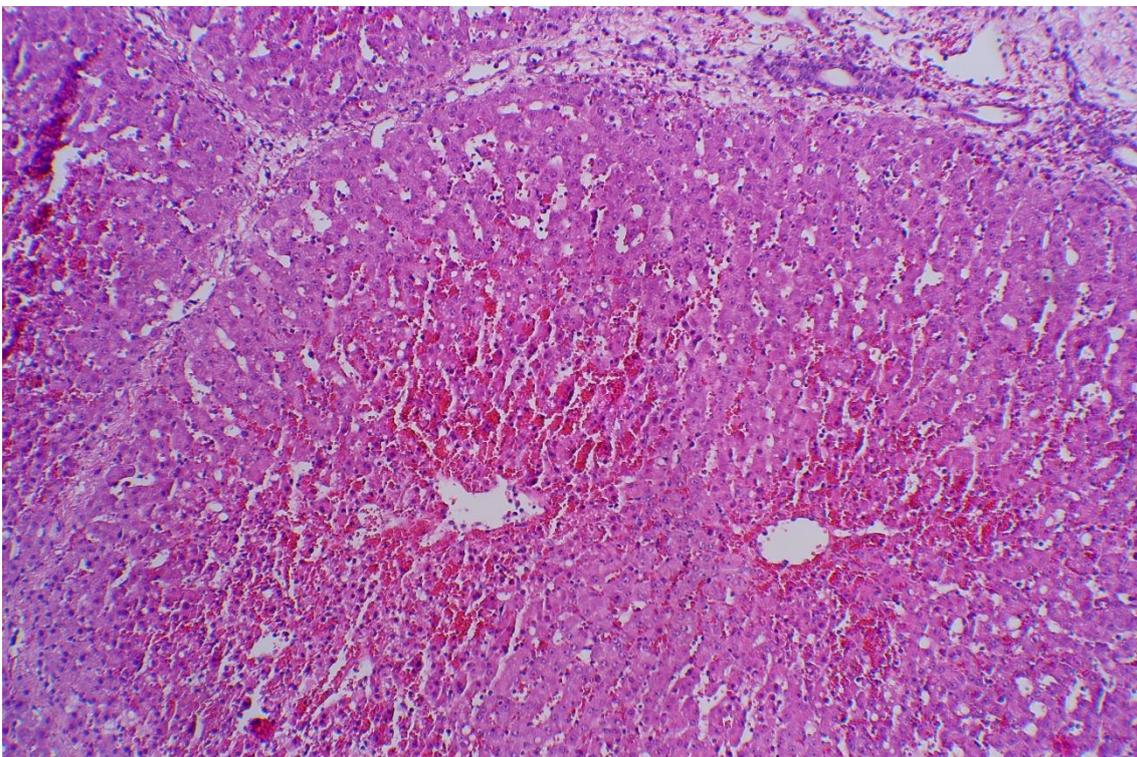


Abbildung 13: Leberbiopsie eines intoxikierten Tieres sechs Stunden nach Manifestation des ALF (Hämatoxylin-Eosin-Färbung)

Bei den Leberbiopsien zum Exitus (Hämatoxylin-Eosin und Ki-67 Immunfärbung) zeigte sich eine fortgeschrittene zentrilobulären Nekrose. Es gab keine Anzeichen einer Leberregeneration (Ki-67 Immunfärbung) bei allen intoxikierten Versuchstieren (6/6).

Abbildung 14 zeigt die Leber eines intoxikierten Tieres zum Exitus.

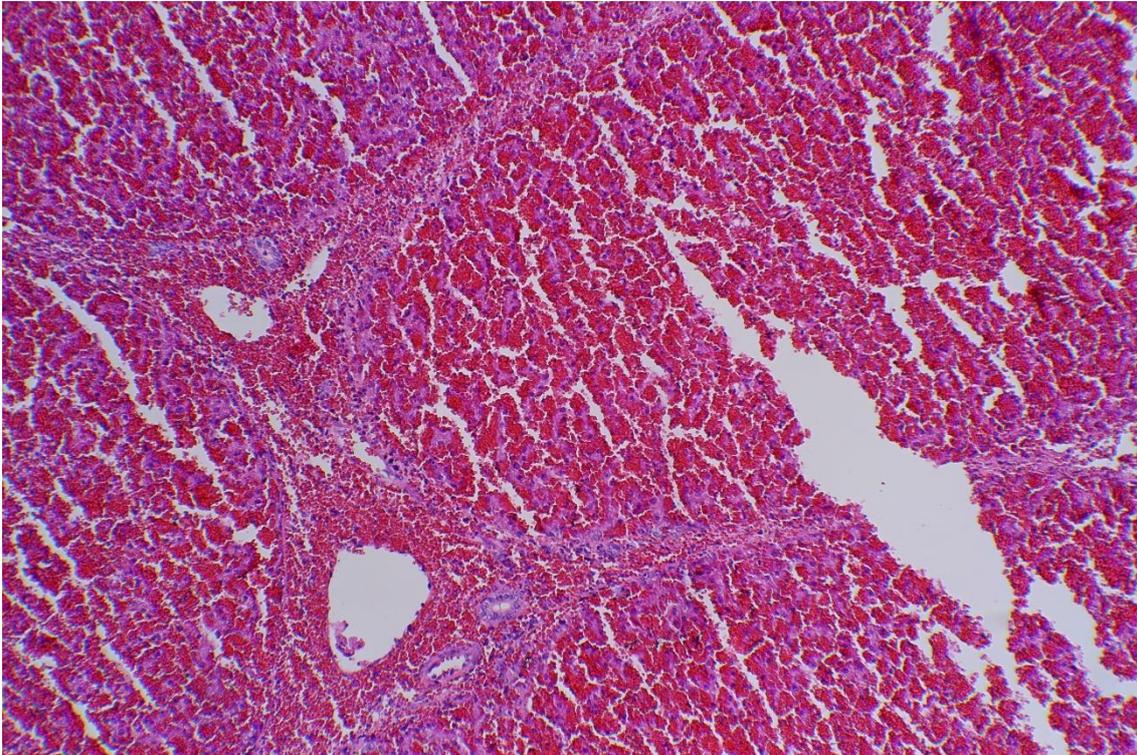


Abbildung 14: Leberpräparat eines intoxikierten Tieres nach Exitus
(Hämatoxylin-Eosin-Färbung)

Bei den beiden Sham-Tieren zeigte sich eine normale Leberarchitektur (Abbildung 15).

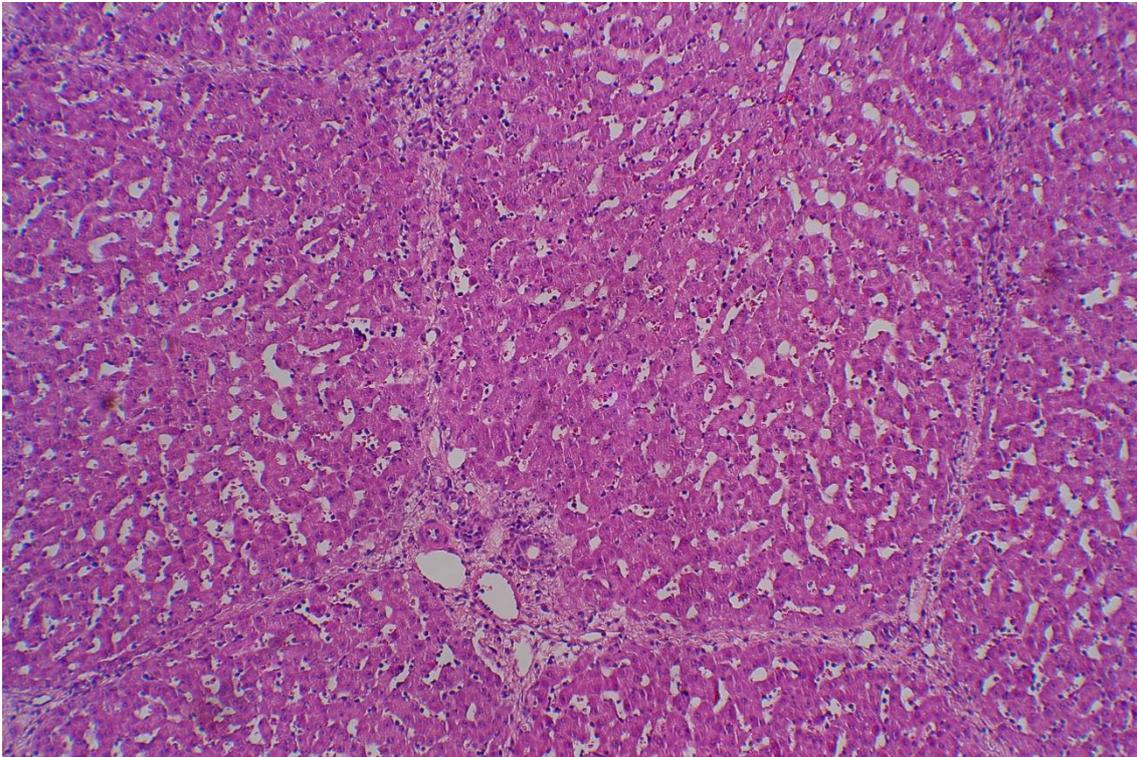


Abbildung 15: Leberpräparat eines Sham-Tieres nach Exitus (Hämatoxylin-Eosin-Färbung)

3.6 Prognosesysteme

Zur Ermittlung der Prognosesysteme bei den Versuchstieren wurden die benötigten Parameter ausgewertet:

Der *INR* der Sham-Tiere ist stabil.

Bei den intoxikierten Tieren kommt es zu einem leichten *INR*-Anstieg bis zur ALF-Manifestation. Im ALF kommt es zur Eskalation mit massiven linearem *INR*-Anstieg (Abbildung 16).

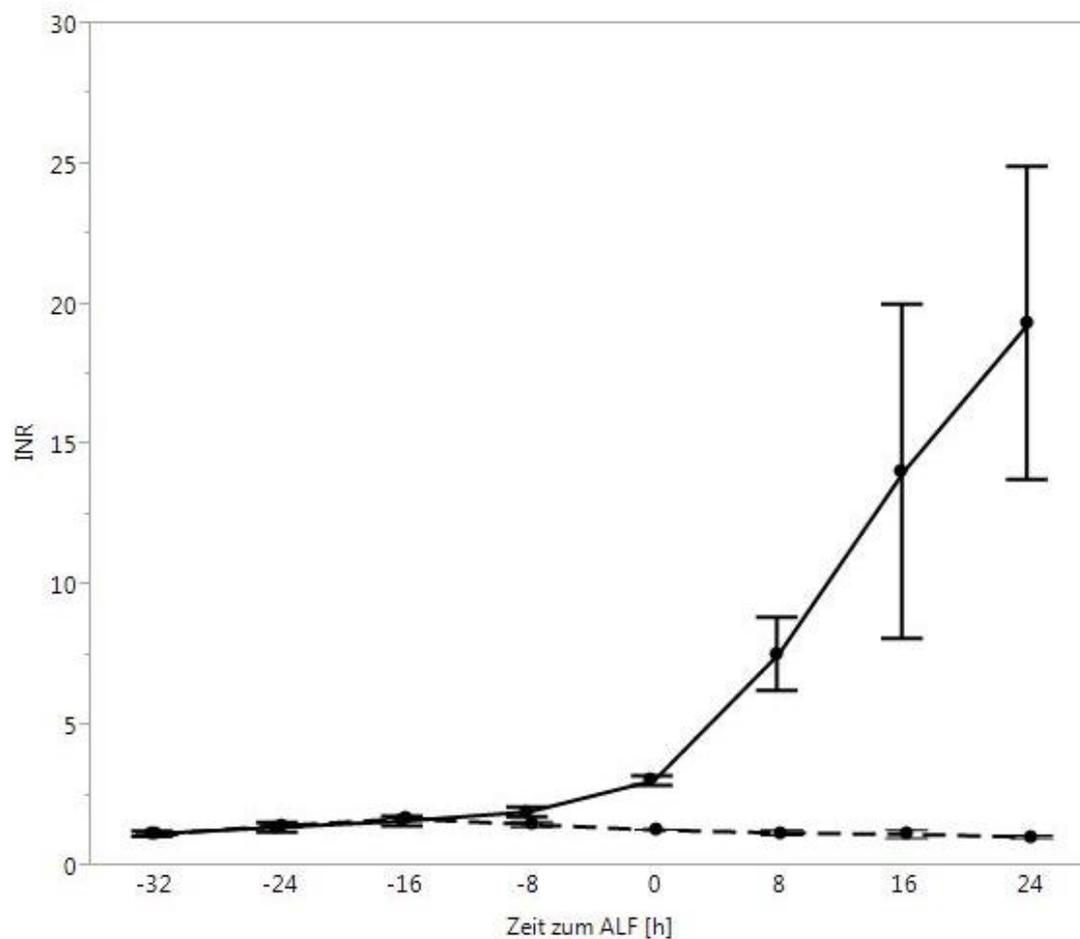


Abbildung 16: Verlauf des *INR* der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Das *Serumkreatinin* zeigt den ähnlichen Verlauf bei den intoxikierten und Sham-Tieren. Während der gesamten Studiendauer befand sich das Serumkreatinin im physiologischen Bereich. Standardmäßig wurde 24 Stunden nach der Intoxikation bzw. Studienbeginn eine Hämofiltration angeschlossen (Abbildung 17).

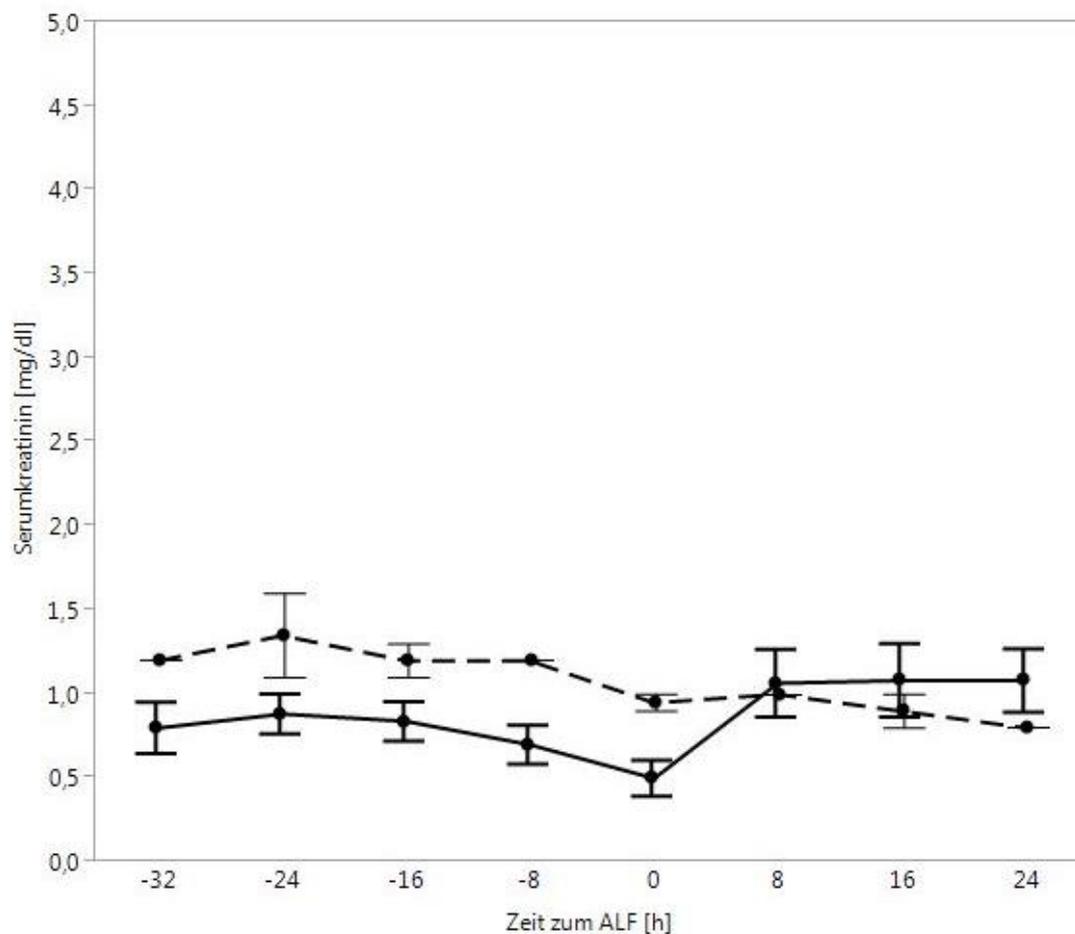


Abbildung 17: Verlauf des Serumkreatinins der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Das *Gesamtbilirubin* lag bei allen Tieren in den ersten 24 Stunden zwischen 0,1 und 0,2 mg/dl (Abbildung 18). Mit Beginn der Hämofiltration fiel das Gesamtbilirubin auf 0,1 mg/dl ab und blieb bis zum Exitus konstant.

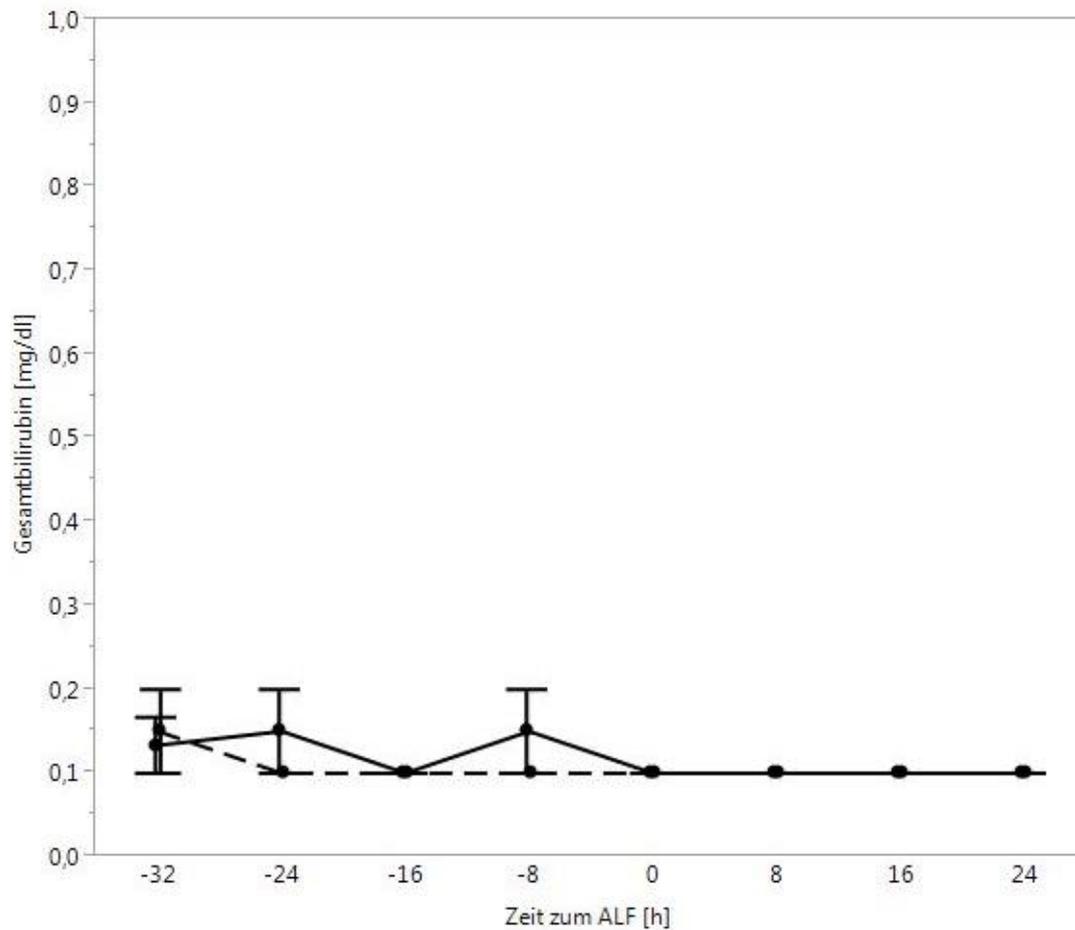


Abbildung 18: Verlauf des Gesamtbilirubins der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Das *Lactat* hielt sich bei den intoxikierten Tieren bis zur ALF-Manifestation im physiologischen Bereich und stieg danach massiv linear an (Abbildung 19). Bei den Sham-Tieren ließ sich keine Veränderung verzeichnen.

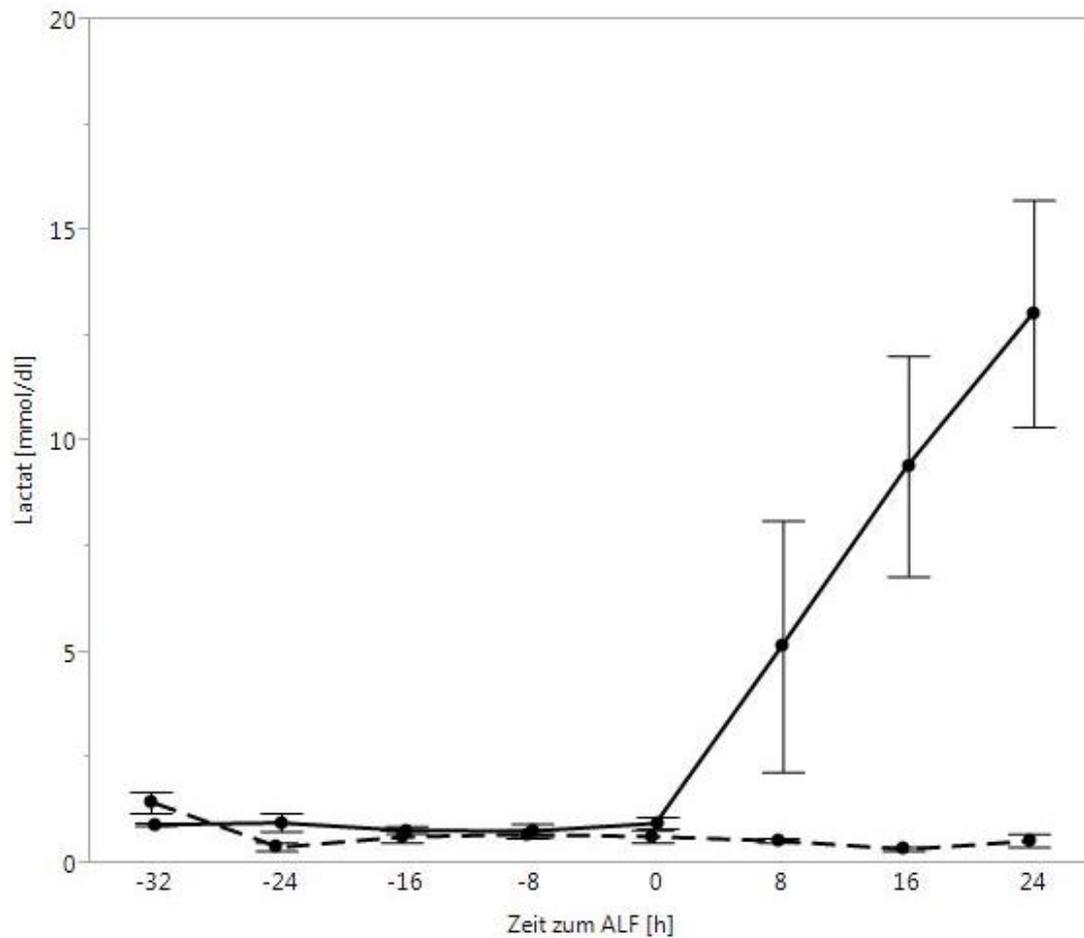


Abbildung 19: Verlauf des Lactats der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Der *pH*-Wert war bei den Sham-Tieren die gesamte Zeit im physiologischen Bereich (Abbildung 20). Bei den intoxikierten Tieren kam es erst im späten Verlauf des ALF zu einem *pH*-Abfall in den sauren Bereich. Der *pH*-Wert konnte ziemlich lange durch Pufferung und Beatmungsmanagement im physiologischen Bereich gehalten werden.

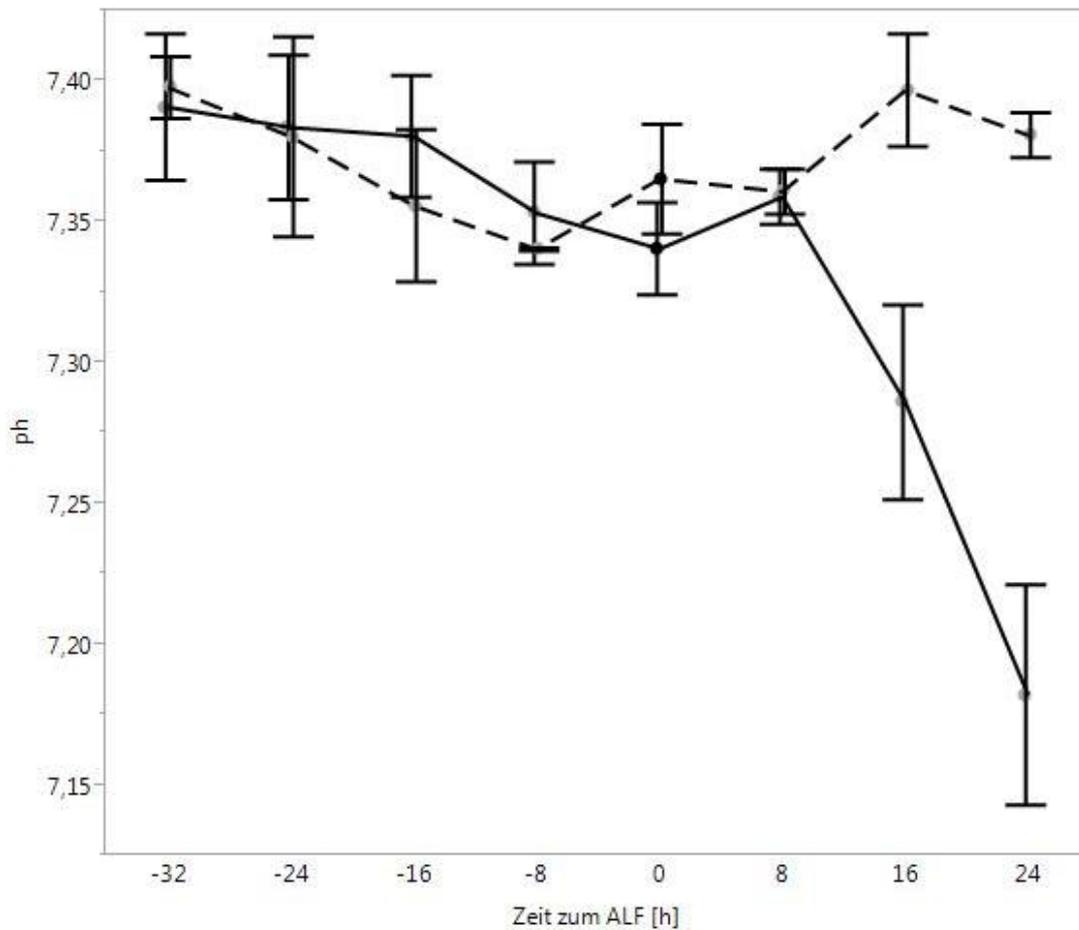


Abbildung 20: Verlauf des *pH*-wertes der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Die King's College- und APACHE II- und APACHE III-Kriterien sind in dieser Studie nicht sinnvoll zu erheben. Die hierfür benötigten Parameter waren aufgrund der intensivmedizinischen Therapie fast über die gesamte Studiendauer im physiologischen Bereich. Desweiteren können solche Parameter wie die HE durch die Narkose nicht ermittelt werden.

Die Clichy-Kriterien sind ebenfalls nicht zu erheben, da keine Faktor-V-Bestimmung durchgeführt wurde.

Der *MELD-Score* wurde alle acht Stunden ermittelt (Abbildung 21). Er begann bei allen Tieren bei einem Wert von 1 und veränderte sich die ersten 16 Stunden nicht. Mit Beginn der Hämofiltration 24 Stunden nach Intoxikation bzw. Studienbeginn geht per definitionem das Serumkreatinin mit 4,0 mg/dl in die Erhebung mit ein. Dadurch kommt es zu einem MELD-Score von 14. Bei den Sham-Tieren blieb dieser bis zum Exitus konstant, bei den intoxikierten Tieren kam es zu einem geringfügigen Anstieg von ein bis zwei Punkten im weiteren Verlauf.

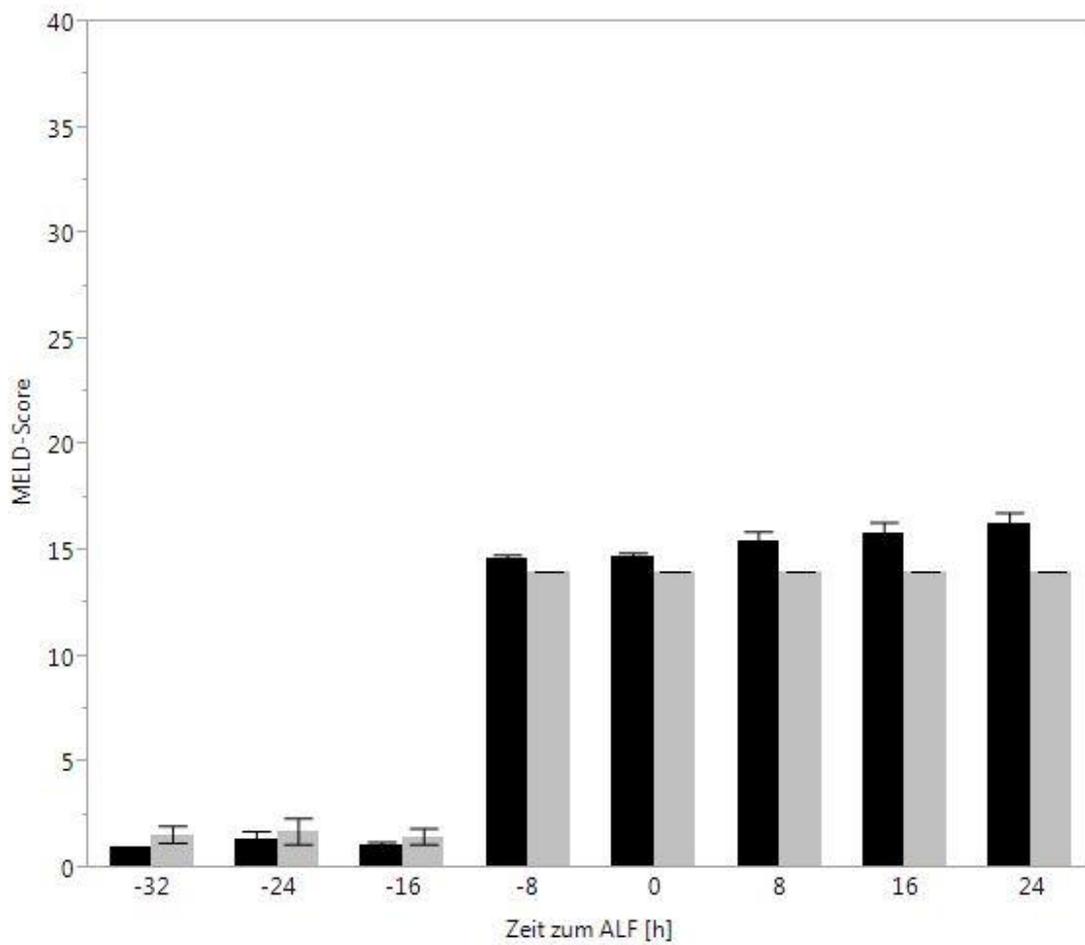


Abbildung 21: Verlauf des MELD-Scores der intoxikierten (schwarz) und Sham (grau)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

Der *BiLE-Score* wurde ebenfalls alle acht Stunden ermittelt (Abbildung 22). Bei den Sham-Tieren war der *BiLE-Score* durchgehend negativ. Im ALF stiegen die erhobenen *BiLE-Scores* konstant im Verlauf stark an.

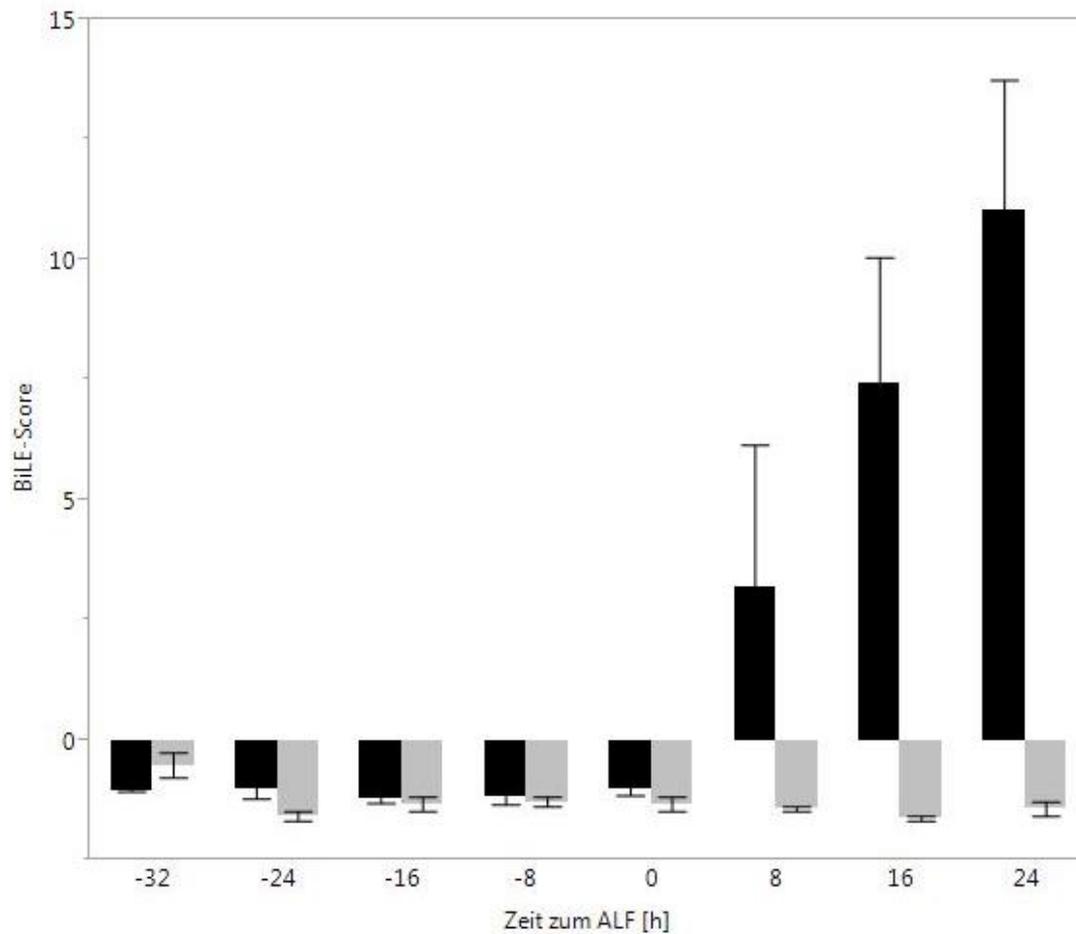


Abbildung 22: Verlauf des *BiLE-Scores* der intoxikierten (schwarz) und Sham (grau)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF

3.7 Zusammenfassung

Zusammenfassend konnten wir durch unsere Ergebnisse Folgendes nachweisen:

Es kam zu einem stetig steigenden PBF in der Intoxikationsphase, gefolgt von einem stetigen Abfall des PBF während des ALF.

Parallel dazu beobachteten wir einen leichten Abfall des Splachnicuswiderstandsindex während der Intoxikationsphase gefolgt von einem Anstieg während des ALF.

Eine weitere Beobachtung war der massive Abfall der Thrombozyten nach Manifestation des ALF.

4 Diskussion

Das ALF ist ein schweres und potentiell tödliches Krankheitsbild. Eines der häufigsten Auslöser ist die Paracetamol-Intoxikation [40, 42].

Bei der hier vorliegenden Studie wurde durch intrajeunale Paracetamolintoxikation das ALF am Schweinemodell induziert, analog dem Vorgehen von Thiel et al [47]. Desweiteren gab es ein festes Protokoll mit genauen Richtlinien für die Gewährleistung einer standardisierten Intensivtherapie. Damit war es uns möglich den klinisch bekannten Verlauf eines ALF mit dessen Charakteristika zu reproduzieren. Die Schweine zeigten einen Quick $< 30\%$ und hämodynamische Instabilitäten. Klinisch äußerte sich dies durch einen MAP-Abfall, einen ZVD-Anstieg sowie einem ICP-Anstieg.

Trotz der fortgeschrittenen Medizin sind die Behandlungsmöglichkeiten des ALF noch immer begrenzt. Die einzige kurative Therapie stellt nach wie vor die LTx dar [21].

Noch immer ist es nicht gelungen den genauen Zeitpunkt zu definieren, ab dem eine Leberregeneration unwahrscheinlich ist und nur die LTx als letzte Rettung des Patientenlebens bleibt. Daher ist es von enormer Wichtigkeit die genauen pathophysiologischen Veränderungen zu verstehen, die während der Entwicklung des paracetamolinduzierten ALF und in dessen weiteren Verlauf auftreten.

Das Ziel der zugrundeliegenden Studie war es, den Verlauf des PBF und der Thrombozytenzahl während des ALF aufzuzeigen, um ihren prognostischen Wert für einen tödlichen Verlauf in einem Schweinemodell mit Paracetamolintoxikation zu analysieren. Das im Verlauf des PBF bestimmte Muster und der Verlauf des berechneten Splachnicuswiderstandsindex wurden als klinisch relevant erkannt.

Die gute Reproduzierbarkeit des Schweinmodells resultiert in einer Mortalität von 100 % am ALF nach 21 ± 4 Stunden und bestätigte damit die Ergebnisse der von Thiel et al zuvor publizierten Großtierstudie [47].

Die zusätzliche Anwendung einer kontinuierlichen venovenösen Hämofiltration im Rahmen der gegenwärtigen intensivmedizinischen Betreuung verlängerte nicht die Überlebenszeit der Schweine im ALF. Trotz der zielgerichteten Paracetamolkonzentration im Blutplasma (300 – 450 mg/dL) wurde bei 3/6 Tieren erst nach 36 – 40 Stunden das ALF manifest, während bei den anderen 3/6 Tieren sich das ALF schon nach 16 – 20 Stunden entwickelte. Die langsam intoxikierten Tiere zeigten nur einen leichten Anstieg des PBF während der anfänglichen Intoxikationsphase, der von einem raschen Anstieg während der letzten acht Stunden vor ALF-Manifestation gefolgt war. Dieser rasche Anstieg ließ sich mit den Tieren vergleichen, die eine schnelle ALF-Manifestation hatten. Anhand des Anfangsverlaufs des PBF noch vor Beginn des ALF lässt sich das Ausmaß der Toxizität durch die Paracetamolmetabolite für die Hepatozyten bestimmen.

Der PBF stellt die Hauptkomponente der Leberdurchblutung dar. Die Messung des PBF ist für den behandelnden Arzt im klinischen Alltag mittels Dopplersonographie leicht zugänglich. Deshalb haben wir uns dafür entschieden, den Fokus auf den Verlauf des PBF im ALF zu legen. Wir verzichteten auf die Messung des Leberarterienflusses, weil dies das chirurgische bedingte Trauma nur vergrößern würde, es anatomische Variationen gibt und die Flussmessung durch die im ALF benötigten Katecholamingaben nur gestört werden würde.

Obwohl die Beurteilung des PBF mittels Dopplersonographie von vielen Variablen abhängt, können Fehler minimiert werden, indem man auf Details

achtet und ein einziger Versuchsleiter für eine gute Reproduzierbarkeit und Sensitivität sorgt [24].

Um das komplette Muster des PBF auswerten zu können, war eine kontinuierliche Messung von diesem notwendig. Eine Dopplerflussmesssonde wurde chirurgisch eingebracht und um die Pfortader gelegt.

Die Hämodynamik der Pfortader wurde kürzlich erst bei LTx [44], dem Small-for-Size-Syndrom bei erweiterten Hepatektomien [17] und Leberlebendependenttransplantationen [8] in klinischen und in Tierstudien erforscht.

Es scheint so, dass der PBF innerhalb seines physiologischen Bereiches als ein Stimulus für die hepatische Regeneration angesehen wird [13, 31]. Allerdings kann ein überhöhter PBF schädlich für die Funktion der angegriffenen Leber sein [23, 36].

Einige Studien untersuchten die Veränderungen des PBF im Rahmen eines ALF. Dies geschah entweder durch reihenweise durchgeführte dopplersonographische Untersuchungen bei ALF-Patienten [10, 11] oder bei Ratten mittels einer radioaktiven Technik [32].

Sie zeigten einen signifikanten Anstieg des PBF in der Ausbildung und der Frühmanifestation des ALF. Dem folgte eine stetige Rückkehr zur Grundlinie während der Leberregeneration. Der Anstieg des PBF ist hier eine Folge des erhöhten kardialen Auswurfs, vergleichbar mit den hämodynamischen Veränderungen bei einer hyperdynamischen septischen Schocksituation. Überraschenderweise war der Verlauf des berechneten Splachnicuswiderstandsindex nicht beeinflusst von dem PBF-Anstieg als Folge von Veränderungen in MAP und ZVD während der Intoxikationsphase.

Um eine schwere systemische Hypotension zu vermeiden, wurde in unserem experimentellen Rahmen Noradrenalin verabreicht zur Wahrung einer hämodynamischen Stabilität. Noradrenalin hat keinen Einfluss auf den mesenterialen venösen Blutfluss. Dies wurde in Tierstudien gezeigt [12, 55]. Trotz der Stabilisierung des MAPs während des ALF mittels Medikamenten, wurde ein konstanter Abfall des PBF im weiteren ALF-Verlauf beobachtet. Dieses Phänomen kann in Bezug gesetzt werden zur Refraktionsfähigkeit von Volumenersatz und Katecholaminunterstützung [7, 50].

Die zunehmende Schädigung der Leberperfusion verringert zusätzlich noch die Sauerstoffversorgung. Diese ist wichtig für das Überleben der geschädigten Hepatozyten und begünstigt den Leberregenerationsprozess.

Die schweren Kreislaufstörungen, die im ALF beobachtet werden, sind unabhängig von der Ätiologie der Lebererkrankung [32]. Deshalb kann es auch für andere ALF-Ätiologien hilfreich sein, den genauen Verlauf des PBF zu analysieren.

Aufgrund des zu 100 % eintretenden fatalen Outcomes könnte dieses Modell wegen einer fehlenden Kontrollgruppe kritisiert werden. Diese sollte die Paracetamolintoxikation überleben und einen stetigen Abfall des PBF bis hin zu physiologischen Werten aufzeigen. Das würde bedeuten, dass der PBF-Abfall im ALF als der Beginn einer einsetzenden Leberregeneration missinterpretiert werden könnte. Allerdings wurde der Abfall des PBF bei spontaner Leberregeneration als ein vergleichsweise langsamer Prozess beschrieben, im Gegensatz zu dem steilen Abfall mit tödlichem Ausgang im Rahmen des ALF [10, 11].

Kürzlich wurde experimentell [23, 37] und klinisch [9, 27] gezeigt, dass Thrombozyten dazu fähig sind, die Leberregeneration nach einer ausgeprägten

Hepatektomie oder LTx voranzutreiben. Ihr Vorhersagewert im Rahmen des ALF bleibt noch immer unklar.

Eine Thrombozytenaktivierung und eine gesteigerte Fibrinolyse erwecken im Rahmen des ALF den Eindruck einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC). Dies kann mit einer Endotoxinämie oder der Abgabe von thromboplastischem Material aus der geschädigten Leber in Zusammenhang gebracht werden. Aber die Diagnostik bleibt nach wie vor schwierig. Denn der Nachweis der Plasmakonzentrationen von Fibrinogen und von Fibrinabbauprodukten sind durch die ALF bedingte Schädigung von allen Gerinnungsparametern im Blutserum erschwert.

Es wurde versucht, die Thrombozyten mittels von-Willebrand-Färbung immunhistochemisch nachzuweisen. Allerdings sind uns diese Färbungen misslungen. Es gilt nun zunächst die Frage zu klären, ob sich die Thrombozyten vom Schwein überhaupt mit der humanen von-Willebrand-Färbung nachweisen lassen. Falls dies möglich ist, sollte unserer Vermutung in weiteren klinischen Studien nachgegangen werden. Es ist zu vermuten, dass die geschädigten Thrombozyten die Lebersinui verstopfen und somit die Leberarchitektur verändern.

Thrombozytopenie findet sich häufig im ALF unabhängig von dessen Ursache [22]. Allerdings kann auch eine Paracetamolüberdosierung direkt zu einer Thrombozytopenie führen [18].

Klinische Fälle einer Paracetamolintoxikation mit einem Plasmalevel von 250 mg/L zehn Stunden nach der absichtlichen Überdosis von 50 g Paracetamoltabletten resultierten in schwerer Thrombozytopenie ohne einer begleitenden Anämie oder Leukopenie ungefähr 48 Stunden nach der Einnahme [49].

Eine retrospektive Analyse von 174 Patienten zeigte, dass es nicht selten zu einer früh auftretenden Thrombozytopenie im Rahmen einer Paracetamolüberdosierung kam [16]. Es wurde von keiner signifikanten Korrelation zwischen Thrombozytopenie und den gemessenen Paracetamolplasmaspiegeln berichtet. Es gab eine große signifikante Korrelation zwischen GOT-Serumspiegel und Thrombozytopenie, die als ein Parameter für eine schwerere Hepatotoxizität betrachtet wurde und ein Tiefpunkt der Thrombozytenzahl wurde erfasst. Dabei wurde der Schluss gezogen, dass eine früh auftretende Thrombozytopenie im Rahmen einer Paracetamolintoxikation die Patienten mit einem hohen Risiko einer Hepatotoxizität erfassen könnte. Die Hepatotoxizität wird durch einen Paracetamolmetaboliten mit unmittelbarer toxischer Wirkung auf Thrombozyten und Hepatozyten verursacht.

Unsere Beobachtung eines unmittelbaren Absturzes der Thrombozyten zum Zeitpunkt der ALF-Manifestation bestätigt die Hypothese der Intoxikation, obwohl wir in unserem Schweinemodell keinen signifikanten Anstieg der GOT-Serumspiegel beobachten konnten.

Die operierten Sham-Tiere, die eine kontinuierliche venovenöse Hämofiltrationstherapie analog dem intensivmedizinischen Behandlungsprotokoll der intoxikierten Tiere erhielten, zeigten keine Thrombozytenveränderungen. Dies bedeutet, dass durch die Hämofiltration in dieser Studie die Thrombozytenzahl nicht beeinflusst wurde.

Die für die Dringlichkeitslistung der LTx mittels MELD-Score benötigten Parameter spielt im ALF in Deutschland nur eine untergeordnete Rolle. Denn beim ALF wird die Dringlichkeit einer LTx als high urgency (HU, sehr hoch) eingestuft. Auch die anderen Prognosesysteme spielen eher eine untergeordnete Rolle. Dies hängt zum einen mit dem akuten und oft fulminanten Verlauf des ALF zusammen. Die für die Berechnung der

Prognosesysteme benötigten Parameter, wie beispielsweise das Bilirubin, können in der kurzen Zeit der ALF-Manifestation gar nicht ansteigen.

Ein weiteres Problem stellt der Zeitpunkt der Erhebung des Prognosesystems dar. In der Regel handelt es sich um Aufnahmewerte und eine Reevaluierung ist somit nicht möglich.

Wlodzimirow et al. [54] haben 2012 als erste eine Analyse der gängigen und neu entwickelten Prognosesysteme für das ALF durchgeführt. Sie haben mittels eines existierenden Frameworks für Prognosesysteme jedes Prognosesystem bewertet und einen Punktwert zugewiesen. Insgesamt wurden 20 Studien analysiert. In der Zwölf-Punkte-Analyse hat lediglich eine Studie die volle Punktzahl erreicht. In der 38-Punkte-Analyse hingegen hat keines der Prognosesysteme die volle Punktzahl erreichen können. Sie kritisierten bei den Prognosesystemen vor allem die fehlende Genauigkeit bei der statistischen Auswertung. Lediglich fünf der Studien verwendeten die Fläche unter der Kurve (Area under the Curve, AUC) als Maß der Diskriminierung [54].

Da keine der bisherigen Prognosesysteme die volle Punktzahl bekommen hat, ist es sinnvoll weitere Parametern für die Prognose des ALF zu definieren. Unsere Versuche zeigten, dass sowohl der PBF als auch die Anzahl der Thrombozyten geeignete Parameter für ein solches Prognosesystem sein könnten.

Die Bedeutung der Thrombozyten für das ALF wurde bereits von Naiki et al [38] erkannt. Sie haben das *Novel Scoring System* entwickelt. Mittels diesem neuen Score können in Japan Patienten nach Dringlichkeit einer LTx mit fulminanter Hepatitis gelistet werden. Die Japaner definieren eine fulminante Hepatitis als ein ALF mit histologischem inflammatorischem Erscheinungsbild der Leber.

Folgende Punkte fließen in den Novel Score mit ein:

- Intervall zwischen Krankheitsbeginn und Entwicklung der HE
- PTT
- Bilirubin gesamt im Serum
- Verhältnis zwischen direktem und gesamten Bilirubin im Serum
- Thrombozytenzahl
- Vorhandensein einer Leberatrophie

In weiteren klinischen Studien gilt es nun herauszufinden, ob das Novel Scoring System auch auf Europa und die USA übertragbar ist. In Japan herrschen andere Lebenssitten und primär wird dort das ALF durch Hepatitisinfektionen verursacht [38]. Desweiteren gilt es zu klären, ob das Novel Scoring System auch für ein paracetamolinduziertes ALF gültig ist.

In weiteren klinischen Studien gilt es neue Prognosesysteme für das paracetamolinduzierte ALF zu entwickeln oder bestehende zu modifizieren. Insbesondere sollte der PBF und die Thrombozytenzahl berücksichtigt werden. Auch sollte versucht werden, einen Score zu entwickeln, der im ALF-Verlauf reevaluierbar ist und nicht nur bei Aufnahme auf Intensivstation erhoben wird.

Bei den derzeit verwendeten Prognosesystemen sind bisher nur der MELD-Score und BiLE-Score reevaluierbar. Beide Scores haben den Nachteil, dass eine Hauptgewichtung auf der Serumbilirubinkonzentration liegt. Das Serumbilirubin steigt jedoch beim paracetamolinduzierten ALF aufgrund des akuten Verlaufes nicht oder nur geringfügig an. Somit sind diese Scores weniger geeignet für die Dringlichkeitslistung zur LTx.

Auch sagen die Scores nichts über eine möglicherweise einsetzende Leberregeneration voraus.

Daher gilt es in weiteren klinischen Studien herauszufinden, inwieweit sich die Regeneration anhand des Verlaufs des PBF und der Thrombozytenzahl vorhersagen lässt. Wir konnten bei einer Mortalitätsrate von 100 % in dieser Studie keine Aussage zur Regeneration treffen.

Wir kommen zu dem Schluss, dass der charakteristische Verlauf des PBF während der Intoxikationsphase und des ALF einen klinisch wichtigen Parameter für die Hepatotoxizität darstellt. Ein abfallender PBF in Kombination mit einer fortschreitenden Verschlechterung der Hämodynamik und zunehmende Organdysfunktionen sagt ein fatales Outcome nach Paracetamolintoxikation voraus. Eine dazu plötzlich zusätzlich auftretende Thrombozytopenie im ALF sagt einen Tod innerhalb der nächsten Stunden voraus.

5 Zusammenfassung

Noch immer liegt bei der Behandlung des ALF die größte Herausforderung darin, den Zeitpunkt zu definieren, ab dem keine Leberregeneration mehr möglich und eine LTx alleinig lebensrettend ist. Die vorliegende Studie hatte das Ziel den Verlauf des PBF und die Veränderungen der Thrombozytenzahl als prognostische Faktoren in einem Schweinmodell mit Paracetamolintoxikation zu untersuchen.

Acht Schweine wurden median laparotomiert, um einen jejunalen Katheter für die weitere Intoxikation und eine Dopplerflusssonde um die Pfortader einzubringen. Das ALF wurde mittels intrajejunaler Paracetamolgabe bei sechs Tieren manifestiert. Zwei operierte Sham-Tiere erhielten keine Intoxikation. Vital- und Beatmungsparameter sowie der PBF wurden kontinuierlich aufgezeichnet. Wichtige Laborparameter wurden alle acht Stunden bestimmt.

Die beiden Sham-Tiere (2/2) zeigten keine Veränderungen während der gesamten Beobachtungszeit in hämodynamischen Parametern, dem PBF und Laborwerten.

Das ALF trat nach 28 ± 12 Stunden bei allen intoxikierten Tieren (6/6) auf und endete tödlich nach 21 ± 4 Stunden aufgrund eines MOF.

Die Grundlinie des PBF befand sich vor Intoxikation bei 836 ± 226 mL/min und stieg bis zu einem Spitzenfluss von 1921 ± 377 mL/min zum Manifestationszeitpunkt des ALF an. Diesem folgte ein kontinuierlicher Abfall des Pfortaderflusses auf 157 ± 197 mL/min bis zum Todeszeitpunkt.

Die Grundlinie der Thrombozytenzahl bei den intoxikierten Schweinen begann bei $304 \pm 120 \times 10^3/\mu\text{L}$. Im Gegensatz dazu startete die Grundlinie der Thrombozytenzahl der beiden Sham-Tiere bei $287 \pm 88 \times 10^3/\mu\text{L}$. Die Thrombozytenzahl fiel bis zum Manifestationszeitpunkt des ALF auf Werte von

159 ± 134 x 10³/μL ab. Die nach acht Stunden auftretende Thrombozytopenie resultierte in Werten von 11 ± 4 x 10³/μL nach 16 Stunden im ALF und sagte einen Tod innerhalb der nächsten Stunden voraus.

Ein konstant abfallender PBF im Rahmen einer fortschreitenden und sich verschlechternden Hämodynamik sollte als ein Warnsignal betrachtet werden. Das darauffolgende Bild einer plötzlichen schweren Thrombozytopenie kündigt ein schnelles fatales Outcome der Tiere an. Beiden Parametern (PBF und Thrombozytenzahl) sollte besondere Beachtung im Rahmen einer Paracetamolintoxikation geschenkt werden.

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: PeriVascular-Dopplerflussmesssonden (Medi-Stim, Oslo, Norwegen) Quelle: http://www.medistim.com	16
Abbildung 2: Verlauf des Quickwertes der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	23
Abbildung 3: Verlauf des MAP der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF.....	24
Abbildung 4: Verlauf des ZVD der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	25
Abbildung 5: Verlauf des infundierten Volumens (HAES) der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	26
Abbildung 6: Verlauf der infundierten NoradrenalinKonzentration der intoxikierten Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	27
Abbildung 7: Verlauf des ICP der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	28
Abbildung 8: Verlauf der Körpertemperatur der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	29
Abbildung 9: Verlauf der AST der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	30
Abbildung 10: Verlauf des PBF der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	31

Abbildung 11: Verlauf der Thrombozytenzahl der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	33
Abbildung 12: Verlauf des Splachnicuswiderstandes der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	34
Abbildung 13: Leberbiopsie eines intoxikierten Tieres sechs Stunden nach Manifestation des ALF (Hämatoxylin-Eosin-Färbung)	35
Abbildung 14: Leberpräparat eines intoxikierten Tieres nach Exitus (Hämatoxylin-Eosin-Färbung).....	36
Abbildung 15: Leberpräparat eines Sham-Tieres nach Exitus (Hämatoxylin-Eosin-Färbung).....	37
Abbildung 16: Verlauf des INR der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	38
Abbildung 17: Verlauf des Serumkreatinins der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	39
Abbildung 18: Verlauf des Gesamtbilirubins der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	40
Abbildung 19: Verlauf des Lactats der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	41
Abbildung 20: Verlauf des pH-Wertes der intoxikierten (—) und Sham (- - -)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	42
Abbildung 21: Verlauf des MELD-Scores der intoxikierten (schwarz) und Sham (grau)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	44
Abbildung 22: Verlauf des BiLE-Scores der intoxikierten (schwarz) und Sham (grau)-Tiere im zeitlichen Verlauf zum ALF	45

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: MELD-Score und Dreimonatsmortalität	7
--	---

8 Literaturverzeichnis

1. Anand AC, Nightingale P, Neuberger JM (1997) Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure: an assessment of the King's criteria. *Journal of hepatology* 26:62-68
2. Arkadopoulos N, Defterevos G, Nastos C, Papalois A, Kalimeris K, Papoutsidakis N, Kampouroglou G, Kypriotis D, Pafiti A, Kostopanagiotou G, Smyrniotis V (2011) Development of a porcine model of post-hepatectomy liver failure. *The Journal of surgical research* 170:e233-242
3. Bailey B, Amre DK, Gaudreault P (2003) Fulminant hepatic failure secondary to acetaminophen poisoning: a systematic review and meta-analysis of prognostic criteria determining the need for liver transplantation. *Critical care medicine* 31:299-305
4. Bechmann LP, Jochum C, Kocabayoglu P, Sowa JP, Kassalik M, Gieseler RK, Saner F, Paul A, Trautwein C, Gerken G, Canbay A (2010) Cytokeratin 18-based modification of the MELD score improves prediction of spontaneous survival after acute liver injury. *Journal of hepatology* 53:639-647
5. Bernal W, Auzinger G, Dhawan A, Wendon J (2010) Acute liver failure. *Lancet* 376:190-201
6. Bernuau J, Goudeau A, Poynard T, Dubois F, Lesage G, Yvonnet B, Degott C, Bezeaud A, Rueff B, Benhamou JP (1986) Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis B. *Hepatology* 6:648-651
7. Bihari DJ, Gimson AE, Williams R (1986) Cardiovascular, pulmonary and renal complications of fulminant hepatic failure. *Seminars in liver disease* 6:119-128
8. Chan SC, Lo CM, Ng KK, Ng IO, Yong BH, Fan ST (2011) Portal inflow and pressure changes in right liver living donor liver transplantation including the middle hepatic vein. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 17:115-121

-
9. Clavien PA, Graf R (2009) Liver regeneration and platelets. *The British journal of surgery* 96:965-966
 10. Clemmesen O (2002) Splanchnic circulation and metabolism in patients with acute liver failure. *Danish medical bulletin* 49:177-193
 11. Deasy NP, Wendon J, Meire HB, Sidhu PS (1999) The value of serial Doppler ultrasound as a predictor of clinical outcome and the need for transplantation in fulminant and severe acute liver failure. *The British journal of radiology* 72:134-143
 12. Di Giantomasso D, Bellomo R, May CN (2005) The haemodynamic and metabolic effects of epinephrine in experimental hyperdynamic septic shock. *Intensive care medicine* 31:454-462
 13. Eguchi S, Yanaga K, Sugiyama N, Okudaira S, Furui J, Kanematsu T (2003) Relationship between portal venous flow and liver regeneration in patients after living donor right-lobe liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 9:547-551
 14. Fikatas P, Lee JE, Sauer IM, Schmidt SC, Seehofer D, Puhl G, Guckelberger O (2013) APACHE III score is superior to King's College Hospital criteria, MELD score and APACHE II score to predict outcomes after liver transplantation for acute liver failure. *Transplantation proceedings* 45:2295-2301
 15. Filipponi F, Mosca F (2001) Animal models of fulminant hepatic failure: need to test liver support devices. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 33:607-613
 16. Fischereder M, Jaffe JP (1994) Thrombocytopenia following acute acetaminophen overdose. *American journal of hematology* 45:258-259
 17. Fondevila C, Hessheimer AJ, Taura P, Sanchez O, Calatayud D, de Riva N, Munoz J, Fuster J, Rimola A, Garcia-Valdecasas JC (2010) Portal hyperperfusion: mechanism of injury and stimulus for regeneration in porcine small-for-size transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 16:364-374

-
18. Gazzard BG, Clark R, Borirakchanyavat V, Williams R (1974) A controlled trial of heparin therapy in the coagulation defect of paracetamol-induced hepatic necrosis. *Gut* 15:89-93
 19. Gill RQ, Sterling RK (2001) Acute liver failure. *Journal of clinical gastroenterology* 33:191-198
 20. Hadem J, Stiefel P, Bahr MJ, Tillmann HL, Rifai K, Klempnauer J, Wedemeyer H, Manns MP, Schneider AS (2008) Prognostic implications of lactate, bilirubin, and etiology in German patients with acute liver failure. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 6:339-345
 21. Herold G (2012) *Innere Medizin 2012*, Köln
 22. Hillenbrand P, Parbhoo SP, Jedrychowski A, Sherlock S (1974) Significance of intravascular coagulation and fibrinolysis in acute hepatic failure. *Gut* 15:83-88
 23. Hisakura K, Murata S, Fukunaga K, Myronovych A, Tadano S, Kawasaki T, Kohno K, Ikeda O, Pak S, Ikeda N, Nakano Y, Matsuo R, Konno K, Kobayashi E, Saito T, Yasue H, Ohkohchi N (2010) Platelets prevent acute liver damage after extended hepatectomy in pigs. *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences* 17:855-864
 24. Iwao T, Toyonaga A, Shigemori H, Oho K, Sumino M, Sato M, Tanikawa K (1996) Echo-Doppler measurements of portal vein and superior mesenteric artery blood flow in humans: inter- and intra-observer short-term reproducibility. *Journal of gastroenterology and hepatology* 11:40-46
 25. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, D'Amico G, Dickson ER, Kim WR (2001) A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 33:464-470
 26. Kamath PS, Kim WR, Advanced Liver Disease Study G (2007) The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology* 45:797-805
 27. Kim J, Yi NJ, Shin WY, Kim T, Lee KU, Suh KS (2010) Platelet transfusion can be related to liver regeneration after living donor liver transplantation. *World journal of surgery* 34:1052-1058

-
28. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE (1985) APACHE II: a severity of disease classification system. *Critical care medicine* 13:818-829
 29. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, Sirio CA, Murphy DJ, Lotring T, Damiano A, et al. (1991) The APACHE III prognostic system. Risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults. *Chest* 100:1619-1636
 30. Lee WM, Seremba E (2008) Etiologies of acute liver failure. *Current opinion in critical care* 14:198-201
 31. Maetani Y, Itoh K, Egawa H, Shibata T, Ametani F, Kubo T, Kiuchi T, Tanaka K, Konishi J (2003) Factors influencing liver regeneration following living-donor liver transplantation of the right hepatic lobe. *Transplantation* 75:97-102
 32. Makin AJ, Hughes RD, Williams R (1997) Systemic and hepatic hemodynamic changes in acute liver injury. *The American journal of physiology* 272:G617-625
 33. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC (2000) A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology* 31:864-871
 34. Mas A, Rodes J (1997) Fulminant hepatic failure. *Lancet* 349:1081-1085
 35. Mendizabal M, Marciano S, Videla MG, Anders M, Zerega A, Balderramo DC, Chan D, Barrabino M, Gil O, Mastai R, Yantorno S, Gadano A, Silva MO (2014) Changing etiologies and outcomes of acute liver failure: Perspectives from 6 transplant centers in Argentina. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*
 36. Mortensen KE, Conley LN, Nygaard I, Sorenesen P, Mortensen E, Bendixen C, Revhaug A (2010) Increased sinusoidal flow is not the primary stimulus to liver regeneration. *Comparative hepatology* 9:2
 37. Myronovych A, Murata S, Chiba M, Matsuo R, Ikeda O, Watanabe M, Hisakura K, Nakano Y, Kohno K, Kawasaki T, Hashimoto I, Shibasaki Y, Yasue H, Ohkohchi N (2008) Role of platelets on liver regeneration after 90% hepatectomy in mice. *Journal of hepatology* 49:363-372
 38. Naiki T, Nakayama N, Mochida S, Oketani M, Takikawa Y, Suzuki K, Tada S, Ichida T, Moriwaki H, Tsubouchi H, Intractable Hepato-Biliary

-
- Disease Study Group supported by the Ministry of Health L, Welfare of J (2012) Novel scoring system as a useful model to predict the outcome of patients with acute liver failure: Application to indication criteria for liver transplantation. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 42:68-75
39. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R (1989) Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 97:439-445
 40. O'Grady JG, Schalm SW, Williams R (1993) Acute liver failure: redefining the syndromes. *Lancet* 342:273-275
 41. Oliveira L, de Souza MM, Andrade ZA (2004) *Capillaria hepatica*-induced hepatic fibrosis in rats: paradoxical effect of repeated infections. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37:123-127
 42. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiodt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, McCashland TM, Shakil AO, Hay JE, Hynan L, Crippin JS, Blei AT, Samuel G, Reisch J, Lee WM, Group USALFS (2002) Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Annals of internal medicine* 137:947-954
 43. Polson J, Lee WM, American Association for the Study of Liver D (2005) AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology* 41:1179-1197
 44. Sainz-Barriga M, Scudeller L, Costa MG, de Hemptinne B, Troisi RI (2011) Lack of a correlation between portal vein flow and pressure: toward a shared interpretation of hemodynamic stress governing inflow modulation in liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 17:836-848
 45. Shakil AO, Kramer D, Mazariegos GV, Fung JJ, Rakela J (2000) Acute liver failure: clinical features, outcome analysis, and applicability of prognostic criteria. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 6:163-169
 46. Thiel C, Thiel K, Etspueler A, Schenk T, Morgalla MH, Koenigsrainer A, Schenk M (2010) Standardized intensive care unit management in an anhepatic pig model: new standards for analyzing liver support systems. *Critical care* 14:R138

-
47. Thiel C, Thiel K, Etspueler A, Morgalla MH, Rubitschek S, Schmid S, Steurer W, Konigsrainer A, Schenk M (2011) A reproducible porcine model of acute liver failure induced by intrajejunal acetaminophen administration. *European surgical research Europäische chirurgische Forschung Recherches chirurgicales europeennes* 46:118-126
 48. Thiel C, Thiel K, Klingert W, Diewold A, Scheuermann K, Hawerkamp E, Lauber J, Scheppach J, Morgalla MH, Konigsrainer A, Schenk M (2011) The enterohepatic circulation of amanitin: kinetics and therapeutical implications. *Toxicology letters* 203:142-146
 49. Thornton JR, Losowsky MS (1990) Severe thrombocytopenia after paracetamol overdose. *Gut* 31:1159-1160
 50. Trewby PN, Williams R (1977) Pathophysiology of hypotension in patients with fulminant hepatic failure. *Gut* 18:1021-1026
 51. Trey C, Davidson CS (1970) The management of fulminant hepatic failure. *Progress in liver diseases* 3:282-298
 52. Vaquero J, Fontana RJ, Larson AM, Bass NM, Davern TJ, Shakil AO, Han S, Harrison ME, Stravitz TR, Munoz S, Brown R, Lee WM, Blei AT (2005) Complications and use of intracranial pressure monitoring in patients with acute liver failure and severe encephalopathy. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 11:1581-1589
 53. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, Kremers W, Lake J, Howard T, Merion RM, Wolfe RA, Krom R, United Network for Organ Sharing Liver Disease Severity Score C (2003) Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology* 124:91-96
 54. Wlodzimirow KA, Eslami S, Chamuleau RA, Nieuwoudt M, Abu-Hanna A (2012) Prediction of poor outcome in patients with acute liver failure-systematic review of prediction models. *PLoS one* 7:e50952
 55. Woolsey CA, Coopersmith CM (2006) Vasoactive drugs and the gut: is there anything new? *Current opinion in critical care* 12:155-159

9 Danksagung

Prof. Dr. Alfred Königsrainer, dem ärztlichen Direktor der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie des UKT, danke ich für die Vergabe des interessanten Promotionsthemas und für seine Betreuung während meiner Forschungsarbeit.

PD Dr. Martin Schenk als Leiter dieses Forschungsprojektes gilt mein besonderer Dank. Deine wertvollen Anregungen und Ratschläge, sowie die Freiheiten in der Projektdurchführung habe ich immer sehr geschätzt.

Den Chirurgen Dres. med. Karolin und Christian Thiel danke ich von Herzen für die immer ausgesprochen angenehme Arbeitsatmosphäre und die wertvollen Diskussionen, mit denen ihr mir einen großartigen Einblick in die Chirurgie sowie die Intensivmedizin gegeben habt.

Besonders danke ich Tierarzt Dr. Tim-Oliver Greiner und MTA Maria Seitzer, die durch ihre Arbeit erst die Durchführung dieses Projektes ermöglicht haben.

Meinen Kommilitonen Elmar, Joi und Kathrin danke ich für die unvergessliche Zeit unserer Zusammenarbeit und die daraus entstandene für mich sehr wichtige Freundschaft.

Meiner Frau und meiner Familie danke ich von ganzem Herzen für ihre unermüdliche Unterstützung, ihre Liebe und Motivation und ihr Interesse an meiner Arbeit.

10 Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name: Wilfried Johannes Klingert

Geburtsdatum, -ort: 31.08.1984, Bad Mergentheim

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Familienstand: verheiratet

SCHULBESUCH

09/1995 – 06/2001 Kopernikus-Realschule Bad Mergentheim

06/2001 Mittlere Reife

09/2001 – 06/2004 Technisches Gymnasium Bad Mergentheim

06/2004 Allgemeine Hochschulreife

BERUFSAUSBILDUNG

09/2004 – 08/2005 FSJ DRK Rettungsdienst Aalen

26.11.2004 Prüfung zum Rettungssanitäter

09/2005 – 04/2006	Ausbildung zum Rettungsassistenten DRK Landesschule Pfalzgrafenweiler
11.04.2006	Prüfung zum Rettungsassistenten
05/2006 – 08/2006	Rettungsassistentenpraktikum DRK Bad Mgh.
02/2007 – 04/2007	Rettungsassistent DRK Bad Mergentheim

HOCHSCHULBILDUNG

04/2007 – 06/2013	Eberhard Karls Universität Tübingen Humanmedizin, Staatsexamen
31.03.2009	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
18.06.2013	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
seit 10/2012 – heute	Eberhard Karls Universität Tübingen Medizininformatik, Bachelor of Science

WISSENSCHAFTLICHE TÄTIGKEIT

seit 07/2009 – heute	Teilnahme an der Arbeitsgruppe PD Dr.rer.nat. Martin Schenk Institut für experimentelle Medizin, Klinik für Allgemeine, Viszeral- und Transplantations- chirurgie Tübingen
----------------------	--

VERÖFFENTLICHUNGEN

Scheuermann K, Thiel C, Thiel K, Klingert W, Hawerkamp E, Scheppach J, Konigsrainer A, Morgalla MH, Leckie P, Proven A, Jalan R, Davies N, Schuhmann MU, Schenk M (2012) Correlation of the intracranial pressure to the central venous pressure in the late phase of acute liver failure in a porcine model. *Acta Neurochir Suppl* 114:387-391

Thiel C, Thiel K, Klingert W, Diewold A, Scheuermann K, Hawerkamp E, Lauber J, Scheppach J, Morgalla MH, Konigsrainer A, Schenk M (2011) The enterohepatic circulation of amanitin: kinetics and therapeutical implications. *Toxicol Lett* 203:142-146