

**Inhaltsverzeichnis**

1 Einleitung und Ziel der Arbeit ..... 1

2 Literaturübersicht ..... 3

2.1 Die Leber des Menschen ..... 3

2.1.1 Das Regenerationsvermögen der Leber..... 7

2.1.2 Ursachen für Leberversagen ..... 10

2.2 Lebertransplantation – Standardtherapie bei Leberversagen ..... 16

2.2.1 Geschichte der Lebertransplantation..... 17

2.2.2 Die orthotope Lebertransplantation ..... 18

2.3 Alternative Behandlungsverfahren bei Leberversagen ..... 25

2.3.1 Lebendorganspende..... 25

2.3.2 Maschinelle Leberersatzverfahren..... 26

2.3.3 Leberzelltransplantation..... 27

2.4 Leberzelltransplantation im Tiermodell ..... 29

2.4.1 Zielsetzung im Tiermodell – die humanisierte Mausleber..... 29

2.4.2 Bisher etablierte Tiermodelle ..... 30

2.4.3 Auswahl der Immunsuppression..... 34

2.4.4 Auswahl des Applikationsweges der Hepatozyten und Vorläuferzellen ..... 35

2.5 Auswahl der Nachweismethoden humaner Zellen in der Mausleber ..... 36

3 Material und Methoden ..... 37

3.1 Versuchsaufbau und zeitlicher Ablauf im Überblick..... 37

3.2 Herkunft und Isolierung humaner Hepatozyten und Vorläuferzellen ..... 39

3.2.1 Humane Hepatozyten ..... 39

3.2.2 Isolierung der Hepatozyten..... 39

3.2.3 Isolierung der Vorläuferzellen ..... 42

3.2.4 Kühlagerung der isolierten Zellen ..... 43

3.3 Zellkultur und Zellfunktion ..... 44

3.3.1 Aussaat und Kultur der Hepatozyten und Vorläuferzellen ..... 44

3.3.2 Bestimmung der Zellviabilität mit Hilfe von Enzymaktivitäten ..... 45

3.3.3	Bestimmung der metabolischen Aktivität über Messung des hepatozytenspezifischen Produktes Harnstoff .....	46
3.4	Tiere und Operationsmethode .....	46
3.4.1	Verwendete Tiere und Haltungsbedingungen .....	46
3.4.2	Vorbehandlung der Tiere .....	47
3.4.3	Operation und Zelltransplantation.....	47
3.4.4	Analgesie .....	50
3.4.5	Nachbehandlung der Tiere .....	50
3.4.6	Versuchsende und Probenentnahme .....	50
3.5	Nachweis der Rekolonisierung .....	52
3.5.1	Immunhistologischer Nachweis .....	52
3.5.2	Molekulargenetischer Nachweis .....	58
3.5.3	Statistische Auswertung .....	64
4	Ergebnisse .....	67
4.1	Hepatozytenisolation aus Explantaten und Leberteilresektaten .....	67
4.2	Isolierung der Vorläuferzellen aus Explantaten und Resektaten .....	70
4.3	Kultivierung der Hepatozyten.....	71
4.4	Tiere und Operation .....	74
4.5	Nachweis der Rekolonisierung mit humanen Hepatozyten mittels PCR .....	76
4.5.1	Nachweis von Humanalbumin .....	76
4.5.2	Nachweis der humanspezifischen Gensequenzen ACTN4 und B2M.....	77
4.6	Nachweis der Rekolonisierung mit humanen Hepatozyten mittels Immunhistochemie.....	79
5	Diskussion.....	85
5.1	Isolierung von Hepatozyten und Vorläuferzellen .....	85
5.2	Beurteilung der Kühlagerung .....	87
5.3	Beurteilung der Zellkultur .....	88
5.4	Beurteilung des Tierversuches .....	89
5.5	Beurteilung des Nachweises der Rekolonisierung.....	91
5.6	Beurteilung der Eignung von Resektaten und Explantaten als Zellquellen .....	94
5.7	Bewertung des etablierten Modells und der Generierung neohybrider Mauslebern mit Ausblick.....	95

6	Zusammenfassung.....	97
7	Summary.....	99
8	Literaturverzeichnis .....	101
9	Anhang.....	125
9.1	Materialliste.....	125
9.2	Verwendete Puffer, Lösungen und Medien.....	129
9.3	Score Sheet für die postoperative Überwachung der Mäuse .....	131
10	Publikationen.....	133
11	Danksagung .....	134
12	Finanzierung des Projektes .....	135
13	Interessenkonflikte.....	136
14	Selbstständigkeitserklärung/Eigenständigkeitserklärung .....	137