

**Eine vermehrte hepatische NO Freisetzung
kompensiert die „hepatic arterial buffer response“
(HABR) nach ausgedehnter Leberresektion**

Hämodynamische Untersuchungen der Leberdurchblutung
unter physiologischen Bedingungen und nach
Leberteilresektion im Kleintiermodell

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt von

Lilia Jüngling

geboren am 30.09.1982 in Kirgisistan

2011

Aus der Klinik für Allgemeine Chirurgie, Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie des
Universitätsklinikums des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin K. Schilling und aus dem

Institut für Klinisch-Experimentelle Chirurgie der medizinischen Fakultät der
Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. med. Michael Menger

Inhaltsverzeichnis:

Zusammenfassung.....	5
Summary.....	8
1. Einleitung	
1.1. Anatomie und Physiologie der Leberperfusion.....	11
1.2. Die hepatic arterial buffer response (HABR).....	14
1.3. Endogene Mediatoren zur Regulation der Leberdurchblutung.....	16
1.3.1. Substanzen mit dilatativer Wirkung auf die hepatische Mikrozirkulation.....	17
1.3.2. Substanzen mit vasokonstriktorischer Wirkung auf die hepatische Mikrozirkulation.....	22
1.4. Lebererkrankungen.....	24
1.4.1. chirurgische Therapieansätze	
1.4.1.1. Leberresektion.....	25
1.4.1.2. „small-for-size“ Syndrom als eine wichtige Komplikation bei größenreduzierten Lebern.....	26
1.5. Wahl der Medikamente	
1.5.1. N (G)-Nitro-L-Arginin Methyl Ester (L-Name).....	28
1.5.2. Levosimendan.....	30
2. Ziel der Arbeit.....	34
3. Material und Methoden	
3.1. Versuchstiere.....	35
3.2. Modell zur Analyse der HABR	
3.2.1. Anästhesie und chirurgische Präparation.....	35
3.2.2. Blutflussmessung mittels Transit-Time-Flow-Measurement- Methode.....	38
3.2.3. Applikation der Medikamente.....	40

3.3.	Versuchsgruppen.....	40
3.3.1.	Flussmessung bei sham-operierten Tieren.....	41
3.3.2.	Flussmessung nach Leberteilresektion.....	41
3.4.	Untersuchungstechniken	
3.4.1.	Makrohämodynamik.....	42
3.4.1.1.	Mittlerer systemischer arterieller Blutdruck.....	42
3.4.1.2.	Portalvenöser und hepatoarterieller Blutfluss.....	42
3.4.2.	Histologie.....	43
3.4.3.	Immunhistochemie.....	44
3.4.4.	Westernblotanalyse.....	44
3.5.	Experimentelles Protokoll.....	45
3.5.1.	Versuchsgruppe A: L-Name.....	46
3.5.2.	Versuchsgruppe B: Levosimendan.....	47
3.6.	Statistik.....	48
4.	Ergebnisse	
4.1.	Mittlerer systemisch arterieller Blutdruck.....	49
4.2.	Hämodynamik bei sham-operierten vs. leberteilresezierten Tieren während HABR	
4.2.1.	Basalwerte ohne Medikamentenapplikation	
4.2.1.1.	Gesamtleberblutfluss.....	53
4.2.1.2.	Prozentualer Anteil des portalvenösen und hepato- arteriellen Blutflusses am Gesamtleberblutfluss.....	54
4.2.2.	Basalwerte unter Medikamentenapplikation	
4.2.2.1.	Gesamtleberblutfluss	55
4.2.2.2.	Prozentualer Anteil des portalvenösen und hepato- arteriellen Blutflusses am Gesamtleberblutfluss	57
4.2.3.	Drosselung des portalvenösen Flusses	
4.2.3.1.	HABR ohne Medikamentenapplikation.....	57
4.2.3.2.	HABR bei sham-operierten Tieren unter L-Name- Applikation.....	60
4.2.3.3.	HABR bei teilresezierter Leber unter L-Name- Applikation.....	62

4.2.3.4.	HABR bei sham-operierten vs. leberteilresezierten Tieren unter L-Name-Applikation	65
4.2.3.5.	HABR bei sham-operierten Tieren unter Levosimendan-Applikation.....	66
4.2.3.6.	HABR bei teilresezierter Leber unter Levosimendan Applikation.....	68
4.2.3.7.	HABR bei sham-operierten vs. leberteilresezierten Tieren unter Levosimendan-Applikation	71
4.3.	Histologie.....	73
4.4.	Immunhistochemie (PCNA).....	73
4.5.	Western Blot Analyse.....	74
4.6.	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	76
5.	Diskussion	
5.1.	Diskussion des Modells	
5.1.1.	Wahl des Tiermodells.....	78
5.1.2.	Modell der Leberteilresektion.....	78
5.1.3.	Anästhesie und chirurgische Präparation	79
5.1.4.	Ultraschall-Laufzeitverfahren.....	80
5.2.	Diskussion der Ergebnisse	
5.2.1.	Mittlerer systemischer arterieller Blutdruck.....	81
5.2.2.	Hämodynamik gesunder versus teilresezierter Leber während HABR.....	82
5.2.3.	Hämodynamik gesunder versus teilresezierter Leber während HABR unter L-Name-Applikation.....	86
5.2.4.	Hämodynamik gesunder versus teilresezierter Leber während HABR unter Levosimendan-Applikation.....	91
5.2.5.	Histologie, Immunhistochemie und Western Blot Analyse.....	94
6.	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	96
7.	Literaturverzeichnis.....	98

8.	Abkürzungsverzeichnis.....	116
9.	Publikationen.....	117
10.	Eidesstattliche Erklärung.....	118
11.	Danksagung.....	119
12.	Lebenslauf.....	120

Zusammenfassung

Eine vermehrte hepatische NO Freisetzung kompensiert die „hepatic arterial buffer response“ (HABR) nach ausgedehnter Leberresektion

Die Funktion der Leber ist aufgrund ihrer lebenswichtigen Synthese- und Stoffwechsellleistungen stark von einer adäquaten Durchblutung abhängig. Diese wird durch einen Mechanismus des Zusammenspiels der Pfortader und der A. hepatica gewährleistet, der als hepatic arterial buffer response (HABR) bezeichnet wird. Dieser besteht in der Fähigkeit der Leberarterie, portalvenöse Blutflussschwankungen gegen zu regulieren, um eine ausreichende Leberdurchblutung sicherzustellen. Zahlreiche Untersuchungen zu den Regulationsmechanismen der HABR haben in der Vergangenheit schon stattgefunden. So stellt z.B. Adenosin den entscheidenden Mediator dar, der während der HABR die Dilatation der Leberarterie vermittelt. Weitere Studien der HABR an der zirrhotischen Leber und nach Leberteileresektion konnten zeigen, dass die durch eine Leberresektion vermittelte portale Hyperperfusion nicht zu einer hepatoarteriellen Hypoperfusion führte, sondern unveränderte hepatoarterielle Flüsse resultierten. Bei erhöhtem portalvenösen Blutfluss infolge der Leberresektion wäre eine entsprechende Reduktion des hepatoarteriellen Blutflusses zu erwarten. Studien konnten eine Restitution des hepatoarteriellen Blutflusses zeigen, wobei der zugrunde liegende Mechanismus für diese fehlende negative HABR nicht identifiziert war. Da Stickstoffmonoxid einen vom Endothel sezernierten, wichtigen vasorelaxierenden Mediator darstellt, und damit eine entscheidende Rolle in der Regulation des basalen Gefäßtonus spielt, lag die Vermutung nahe, dass NO in der hepatischen Zirkulation ebenfalls von enormer Wichtigkeit sein könnte.

In einem Studienabschnitt dieser Arbeit wurde die Bedeutung von Adenosintriphosphat-(ATP-) sensitiven K^+ -Kanälen bezüglich der HABR durch die Anwendung des Inodilators Levosimendan untersucht. Bisher wurde nur in wenigen Studien eine mögliche Relevanz der Kalium-Kanäle hinsichtlich der Leberperfusion und einer potenziellen Bedeutung Levosimendans bezüglich der hepatischen Zirkulation hypothetisiert. Gegenstand dieser Arbeit war die Erforschung und Demonstration dieser für die HABR potentiell bedeutender Mechanismen: Die Stimulierung ATP-sensitiver Kalium-Kanäle durch Levosimendan und

Blockierung des Stickstoffmonoxid-Synthase-Systems durch N (G)-Nitro-L-Arginin Methyl Ester (L-Name).

Zur Untersuchung der Rolle und Funktion der HABR wurde ein Kleintiermodell an der Rattenleber etabliert, welches die direkte Messung der Makrohämodynamik der Leber erlaubt. Sprague-Dawley Ratten wurden einer 70%igen Leberteilektomie unterzogen, sham-operierte Tiere dienten zur Kontrolle. Nach Laparotomie und intraabdomineller mikrochirurgischer Präparation konnte unter Verwendung eines Ultraschalllaufzeitverfahrens die erste Messung durch Bestimmung des Blutflusses der Pfortader und der A. hepatica durchgeführt werden.

Nach einer intrahepatischen Injektion von L-Name bzw. Levosimendan via einen zuvor angelegten Katheter in die A. lienalis konnte die zweite Messung der Flüsse vorgenommen werden.

Im ersten Studienabschnitt wurde die Auswirkung der schrittweisen Reduktion des portalen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0% auf den hepatoarteriellen Fluss vor sowie nach einer L-Name Applikation festgehalten. Unter Ausgangsbedingungen führte die Leberresektion zu einem erheblich gesteigerten Blutfluss der Pfortader ($135,16 \pm 31,36$ vs. $282,44 \pm 12,23$ ml/min/100g Leber), wobei es dabei nicht zu einem reduzierten hepatoarteriellen Blutfluss kam, wie dies im Sinne einer intakten HABR zu erwarten wäre ($65,27 \pm 22,20$ vor vs. $68,66 \pm 17,45$ ml/min/100g Leber nach Leberresektion). Da nach Leberresektion bei nachweislich aufrechterhaltener Reaktionsfähigkeit der Arterie keine hepatoarterielle Konstriktion eintrat, mussten für den gleichbleibend hohen arteriellen Fluss noch andere vasoaktive Mediatoren verantwortlich sein, die eine Kompensation oder sogar Erhöhung des Blutflusses der Leber bewirken. Durch die intrahepatische Applikation von L-Name wurde durch die Blockierung der Stickstoffmonoxidsynthase die vasodilatatorische Wirkung von NO aufgehoben. Somit konnte tatsächlich eine hepatoarterielle Flussreduktion nach L-Name Applikation bei den leberteilektomierten Tieren im Vergleich zu den sham-operierten verzeichnet werden ($40,01 \pm 8,52$ vs. $17,95 \pm 7,70$ ml/min/100g Leber). Eine Western Blot Analyse der Lebergewebeproben zeigte einen signifikanten Anstieg der für die Stickstoffmonoxid Bildung in der Leber zuständigen NO Synthasen eNOS und iNOS verglichen mit Gewebeproben von sham-operierten Tieren. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass die Pufferkapazität der HABR, also der konsekutive hepatoarterielle Flussanstieg auf die portalvenöse Drosselung, bei leberteilektomierten Tieren unter L-Name signifikant höher war als bei sham-operierten oder leberteilektomierten Ratten, die keiner Therapie mit L-Name unterzogen wurden.

Im zweiten Studienabschnitt wurde im selben Versuchsaufbau Levosimendan als Bolus in die A. hepatica injiziert und zusätzlich kontinuierlich über einen Perfusor verabreicht. Hier konnte eine leichte hepatoarterielle Flusssteigerung bei leberteilresezierten Tieren im Vergleich zu den sham-operierten Kontrollen beobachtet werden. Darüberhinaus bewirkte Levosimendan bei leberteilresezierten Tieren eine Zunahme der Pufferkapazität der HABR. Eindeutige signifikante Flussveränderungen konnten nicht nachgewiesen werden.

Aus der vorliegenden Studie geht hervor, dass eine „negative“ HABR im Sinne einer hepatoarteriellen Flussreduktion während der portalen Hyperperfusion nach ausgedehnter Leberresektion durch eine vermehrte NOS-vermittelte intrahepatische NO Freisetzung kompensiert wird. In dieser Arbeit konnte nur eine angedeutete Levosimendan vermittelte hepatoarterielle Flusssteigerung nach einer Leberresektion gezeigt werden. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Rolle der Kalium-Kanäle in der HABR zu analysieren. Die Wirksamkeit einer Substitution des Substrates der NOS ist noch nicht endgültig geklärt. In weiteren Studien sollte untersucht werden, ob eine Stickstoffmonoxid-Substitution helfen könnte, die Leberperfusion und -regeneration bei Patienten nach ausgedehnter Leberresektion zu verbessern.

Summary

Increased nitric oxide liberation compensates the hepatic arterial buffer response (HABR) after major partial hepatectomy

The perfusion of the liver is of utmost importance for the physiology and function of the whole organism. It is guaranteed by a mechanism of interaction between the hepatic artery and the portal vein, called hepatic arterial buffer response (HABR), representing the ability of the hepatic artery to produce compensatory flow changes in response to changes in the portal venous flow, thus maintaining total hepatic blood flow approximately constant. Numerous studies have been performed in the past to study the regulative mechanisms of the HABR. Thus, Adenosine is the essential mediator to induce the dilatation of the hepatic artery during the HABR. Further studies on the HABR showed that major hepatectomy was associated with a distinct portal hyperperfusion. According to the HABR thesis, an increase in portal venous flow is supposed to cause a decrease in hepatic arterial flow and vice versa. Interestingly, hepatic arterial blood flow was not affected by the state of portal hyperperfusion, thus, no significant changes could be observed in hepatic arterial blood flow after partial liver resection. Therefore it has to be assumed that the portal hyperperfusion induced constriction of the hepatic artery is counterbalanced by other liver perfusion regulating mechanism, which seems to be the nitric oxide synthase (NOS)-system. Nitric oxide (NO) presents one of the most important vasorelaxant mediators and plays a determining role in the regulation of the basal vascular tone.

In one section of the following work, the relevance of adenosinetriphosphate-sensitive potassium channels (K_{ATP} -channels) was analyzed in respect of the HABR by the employment of Levosimendan. There are few previous studies mentioning the significance of the K_{ATP} -channels concerning liver perfusion and the potential relevance of Levosimendan in terms of hepatic circulation. The purpose of the following study was the investigation and demonstration of these possibly significant mechanisms: The stimulation of K_{ATP} -channels by Levosimendan and the blockage of the nitric oxide Synthase-system by N(G)-nitro-L-arginine methyl ester (L-Name).

For examination of HABR a rat liver model was established, which allows the direct measurement of the macrohemodynamics of the liver. Sprague-Dawley rats underwent 70% liver resection, sham-operated animals served as controls. After transverse laparotomy and

microsurgical intraabdominal preparation, the first measurement was performed by determination of the blood flow in the portal vein and in the hepatic artery using ultrasound flow measurements. After an intrahepatic injection of L-Name or Levosimendan via an additional catheter in the splenic artery the second measurements of the hepatic blood flow could be accomplished.

In the first part of the study, stepwise portal venous blood flow reduction from 100% to 80%, 60%, 40%, 20% and 0% of baseline was performed, respectively, and its effect on the hepatic arterial blood flow before as well as after L-Name application was recorded. The first measurement revealed a significant increase in portal venous blood flow after major partial hepatectomy ($135,16 \pm 31,36$ vs. $282,44 \pm 12,23$ ml/min/100g liver) when compared to baseline values before hepatectomy. Hepatic arterial flow reduction due to the portal hyperperfusion could not be observed ($65,27 \pm 22,20$ before vs. $68,66 \pm 17,45$ ml/min/100g liver after hepatectomy), thus indicating a lack of “negative” HABR. This indicates that additional factors may be activated to counteract the “negative” hepatic arterial flow response. By intrahepatic application of L-Name the vasodilatory effect of nitric oxide was counteracted by blockage of NO synthase. In fact, this was associated with a significant decrease of hepatic arterial blood flow during portal hyperperfusion after 70% hepatectomy was performed ($40,01 \pm 8,52$ vs. $17,95 \pm 7,7$ ml/min/100g liver). Indeed, western blot analysis of liver tissue samples revealed a significant increase in eNOS and iNOS protein expression, which induce NO liberation in the liver, when compared with liver samples of sham-operated animals. Furthermore, buffer capacity after partial liver resection associated with intrahepatic L-Name infusion exceeded that of sham-operated or partially hepatectomized animals without the application of L-Name.

In the second part of the study, under similar experimental conditions, intrahepatic bolus injection and continuous Levosimendan perfusion were performed. A slight increase of hepatic arterial blood flow after 70% liver resection could be observed under intrahepatic infusion of Levosimendan compared with sham-operated animals. Furthermore, buffer capacity was augmented after utilization of Levosimendan in animals which underwent partial hepatectomy. Significant changes in hepatic blood flow could not be observed.

In conclusion, this study demonstrates that a “negative” HABR after major liver resection is counter-balanced by increased hepatic NO-release in consequence of an enhanced expression of NO synthase. In this study, a Levosimendan mediated slight increase in hepatic arterial flow after 70% hepatectomy could be demonstrated. Further investigations should assure the

role of K_{ATP} -channels during HABR. Furthermore, the efficacy of substitution of the substrate of NO synthase is not clarified yet. Further studies are necessary to unravel the possible benefit of a substitution of nitric oxide to improve liver perfusion and regeneration in patients undergoing extended liver resection.

1. Einleitung

1.1. Anatomie und Physiologie der Leberperfusion

Die Leber als größtes parenchymatöses Organ des Menschen hat beim Erwachsenen ein Gewicht von ca. 1,5 kg. Bei nur 2,5% des Körpergewichtes beläuft sich der Gesamtleberblutfluss auf ca. 25% des Herzzeitvolumens (ca. 1ml/min/g Gewebe, d.h. ca. 1500 ml/min), außerdem macht der Sauerstoffverbrauch der Leber ca. 20% des Gesamtsauerstoffverbrauchs des Körpers aus (Vollmar und Menger, 2009). Bedeutsam ist die doppelte Gefäßversorgung der Leber: zum einen über die Arteria hepatica (Leberarterie) und zum anderen über die Vena portae (Pfortader), welche gemeinsam im Ligamentum hepatoduodenale zur Porta hepatis ziehen.

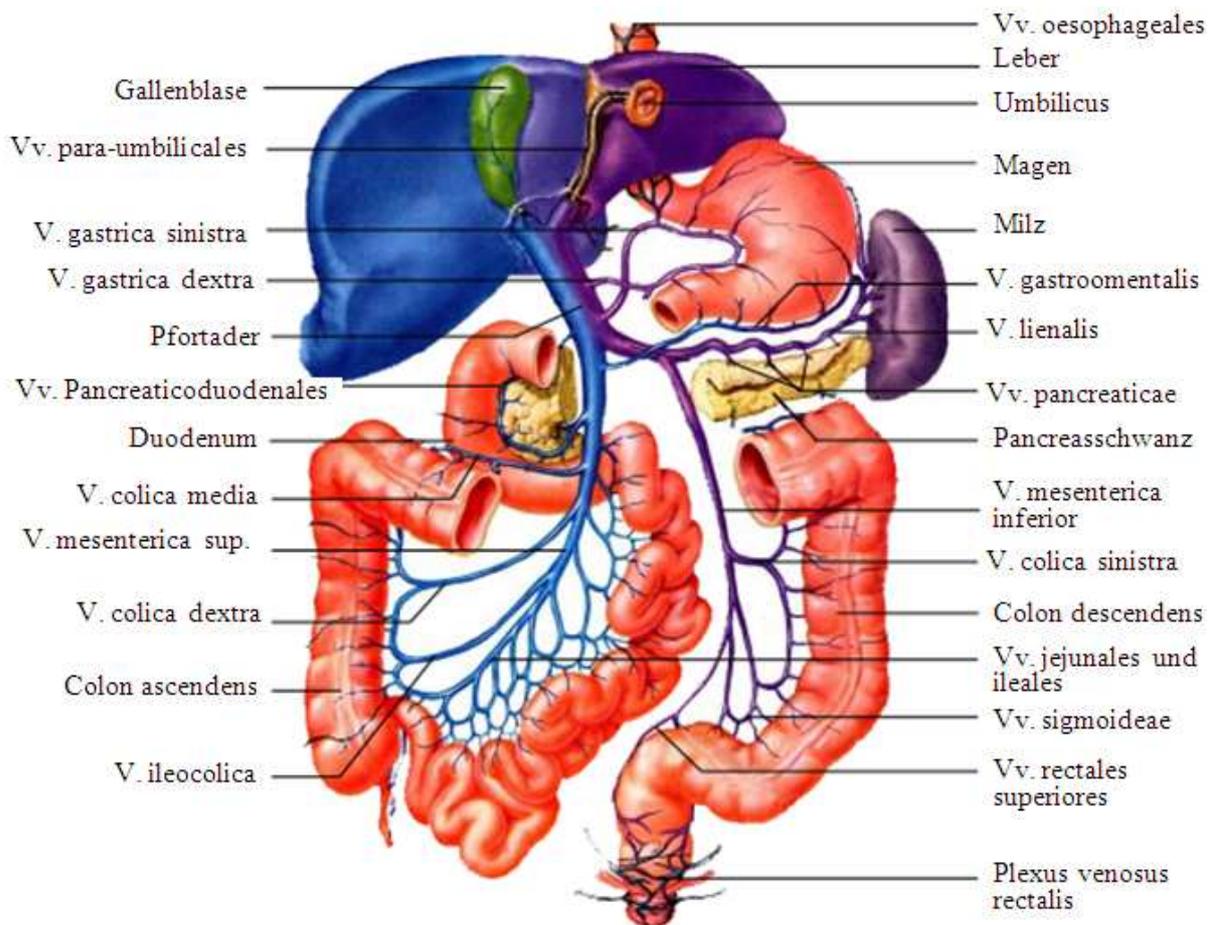


Abbildung 1: Zuflussgebiet der Pfortader: Die V. porta leitet das gesamte Blut aus dem mesenterialen Stromgebiet, inklusive Magen, Milz, Pankreas Dünndarm, Dickdarm, Rektum. (nach: ZUM Internet e.V.)

Die venöse Drainage der Leber erfolgt über den rechten, medianen und linken Lebervenenstamm (Vena hepatica dextra, intermedia, sinistra) welche als kurze Gefäße unmittelbar unterhalb des Zwerchfells in die Vena cava inferior münden. Die Pfortader entsteht aus dem Zusammenfluss von Vena mesenterica superior, inferior und Vena lienalis, in ihr fließt dementsprechend das gesamte Blut aus dem mesenterialen Stromgebiet, was prinzipiell nahezu dem gesamten Verdauungstrakt von Magen bis zum oberen Rektum sowie Bauchspeicheldrüse und Milz entspricht (Abbildung 1). Das portale, nährstoffreiche, aber sauerstoffarme Blut wird über die Venae interlobulares auf die einzelnen Leberläppchen verteilt. Es ist angereichert mit den aus dem Intestinum kommenden Nahrungsbestandteilen (Aminosäuren, Monosacchariden, mittelkettigen Fettsäuren), im Darm gebildeten oder resorbierten Toxinen (z.B. Ammoniak), Gallensäuren sowie speziellen Hormonen (Insulin, Glucagon) und Zytokinen.

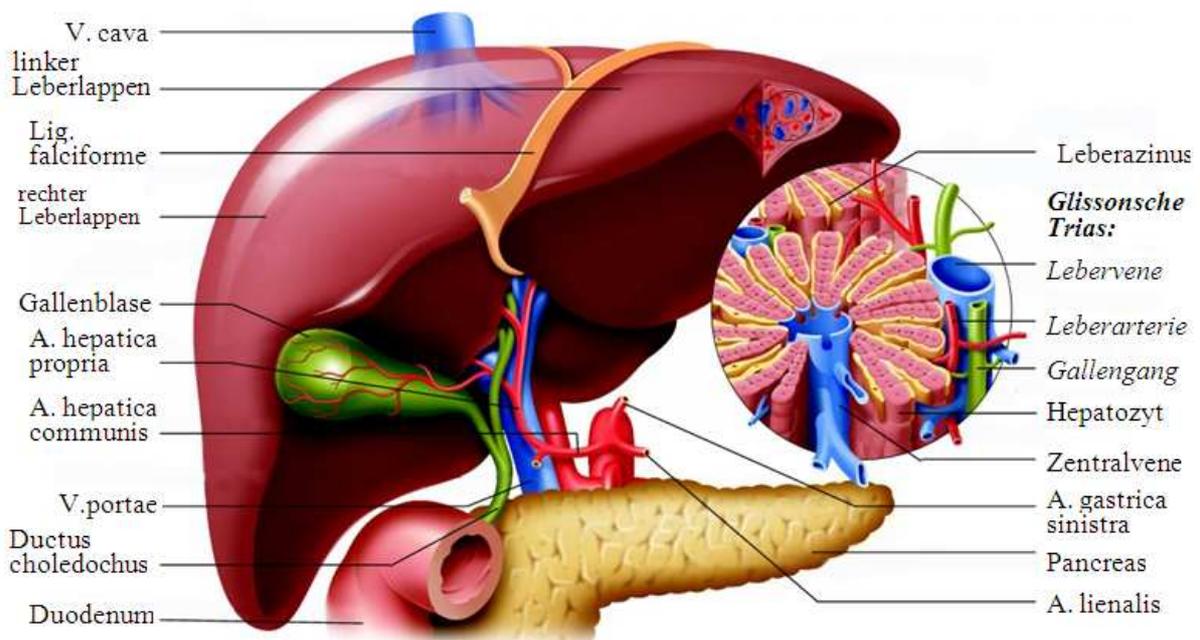


Abbildung 2: Makroskopische und mikroskopische Leberanatomie (nach: Wissenmedia, 2009)

Der Anteil der arteriellen Durchblutung macht beim Gesunden etwa 20-25% und der Anteil der portalen Blutversorgung etwa 75-80% des Gesamtleberblutflusses aus. Obwohl die Pfortader, im Gegensatz zu der gut oxygenierten Leberarterie, sauerstoffarmes Blut leitet, werden >50% des Gesamtsauerstoffbedarfs der Leber, aufgrund ihrer hohen Fließrate, von der Pfortader gedeckt. Infolgedessen hängt die Sauerstoffversorgung der Leber fast gleichmäßig

von beiden afferenten Gefäßen ab, der Leberarterie und der Pfortader (Vollmar und Menger, 2009).

Die Leberarterie ist in ihrer Aufzweigung sehr variabel. In etwa 60% entspringt sie gemeinsam mit Arteria lienalis und Arteria gastrica sinistra aus dem Truncus coeliacus, der als erster infradiaphragmaler Abgang aus der Aorta kommt. Als Arteria hepatica communis gibt sie die Arteria gastroduodenalis ab, wonach sie dann als Arteria hepatica propria bezeichnet zum Leberhilus zieht und sich meist im Bereich des Lig. hepatoduodenale in einen rechten und einen linken Ast teilt (*Abbildung 2*). Das hepatoarterielle Blut wird wiederum über Aa. interlobulares auf die Leberläppchen verteilt. Innerhalb der Leber bilden die organinternen Verzweigungen von V. portae, A. hepatica und Gallengängen Unterteilungen des Organs in sogenannte Segmente (Couinaud, 1954). Die ableitenden Gefäße der Venae hepatica tragen zu dieser Einteilung nicht bei. So versorgt die linke A. hepatica die Lebersegmente I bis IV, die rechte die Segmente V bis VIII. In etwa 40% muss man mit Varianten von der arteriellen Versorgung rechnen.

In der Leber vermischt sich das hepatoarterielle Blut der Leberarterie und das portalvenöse Blut in den Lebersinusoiden und durchfließt das Kapillargebiet der Leber, welches früher als „Rete mirabile“, also Wundernetz der Leber, bezeichnet wurde. Die mikrovaskuläre Perfusionseinheit der Leber stellt der so genannte „Leberazinus“ dar (Rappaport, 1958; Rappaport, 1973; Rappaport, 1977). Dieser hat im Querschnitt eine sechs- bis achteckige Form, mit den versorgenden Gefäßen und Gallengängen am Rand und einer drainierenden sogenannten Zentralvenole in der Mitte, aus der das Blut letztlich über die Lebervenen in die V. cava inferior geleitet wird (*Abbildung 2*).

Die Leberperfusion stellt innerhalb des Organismus daher eine Besonderheit dar, weil das der Leber über die Pfortader zugeführte Blut bereits das mesenteriale Kapillargebiet durchströmt hat und somit ein zweites Kapillargebiet durchfließt (*Abbildung 1*). Der entsprechende Perfusionsdruck, d.h. der Druckgradient zwischen Pfortader und hepatischen Venolen, ist somit entsprechend niedriger als dies für andere Kapillargebiete gilt; bei der Ratte beträgt er weniger als 5mmHg (Lautt, 1986; Hendriksen und Lassen, 1988). Zusätzlich wird das Kapillargebiet der Leber von Ästen der Arteria hepatica versorgt, die im Gegensatz zu den portalvenösen Kapazitätsgefäßen, Widerstandsgefäße mit höherem arteriellen Druck darstellen. Somit ist die Leber in einem Hochdrucksystem der Leberarterie und einem Niederdrucksystem der Pfortader und der Lebervenen zwischengeschaltet. Während die Blutversorgung der Gallengänge einzig durch den hepatoarteriellen Blutfluss gewährleistet

wird (Oda, 2003; Oda, 2006), erfolgt die Blutversorgung des Parenchyms, d.h. der sinusoidale Blutfluss, gemischt hepatoarteriell-portalvenös.

1.2. Die hepatic arterial buffer response (HABR)

Die Leberdurchblutung hat aufgrund der hepatischen Syntheseleistung und Stoffwechselfvorgänge großen Einfluss auf die endokrine und metabolische Homöostase des Organismus. Ein konstanter Gesamtleberblutfluss und eine homogene Leberdurchblutung halten die endokrine und metabolische Synthesefunktion sowie die endokrine bzw. humorale Clearancefunktion der Leber aufrecht. Ebenso sorgt ein konstanter Gesamtleberblutfluss für einen gleichmäßigen venösen Rückfluss zum Herzen und somit für ein gleichmäßiges Herzzeitvolumen (Huet, 1985; Lutt und Greenway, 1987). Der portalvenöse und damit hepatische Blutfluss unterliegt jedoch physiologisch großen Schwankungen, z.B. postprandial oder nach körperlicher Anstrengung. Die Leber ist aber nicht in der Lage, den portalvenösen Fluss, welcher den Zustrom aus den extrahepatischen Splanchnikusorganen darstellt, direkt zu regulieren (Lutt, 1996; Lutt und Greenway, 1987). Ausschließlich der portalvenöse Druck wird durch einen vom portalvenösen Blutfluss abhängigen hepatischen Widerstand autoreguliert, wobei die Höhe des portalvenösen Blutflusses nicht verändert wird (Lutt und Legare, 1992; Lutt und Greenway, 1987). Um das Ziel einer homogenen Leberdurchblutung dennoch zu erreichen, verfügt die Leber über einen einzigartigen, speziellen Autoregulationsmechanismus, welcher die Fähigkeit der Leberarterie beschreibt, portalvenöse Blutflussschwankungen gegen zu regulieren, die hepatic arterial buffer response (HABR) (Mücke, 2000; Richter, 2000; Dold, 2006; Lutt, 1985). Dieses Konzept geht davon aus, dass der Pfortaderfluss als Summe des Blutflusses des mesenterialen Stromgebietes eine nicht aktiv zu modulierende Größe darstellt, da physiologischerweise keine porto-systemischen Shunts vorhanden sind, und das gesamte durch den Verdauungstrakt fließende Blut auch die Leber passieren muss. Eine vermehrte mesenteriale Perfusion hat demzufolge auch einen erhöhten Pfortaderblutfluss zur Folge. Die Besonderheit des von Lutt geprägten Modells der HABR besteht darin, dass die hepatoarterielle Perfusion nicht bei erhöhtem Pfortaderblutfluss gesteigert wird, was eine gleichbleibende Sauerstoffsättigung des sinusoidalen Blutes bedeuten würde, sondern dass sich der hepatoarterielle Blutfluss reziprok zum Pfortaderblutfluss verhält. Hierdurch wird eine annähernd gleich bleibende Gesamtpfusion der Leber pro Zeit aufrechterhalten, was wiederum eine konstante Clearance von Hormonen

oder Stoffwechselmetaboliten bedeutet, wodurch der Leber eine wichtige Funktion bei der Aufrechterhaltung der Homöostase des Organismus zukommt. Im Falle eines portalvenösen Blutflussabfalls steigt der hepatoarterielle Blutfluss kompensatorisch an (Marcos, 2000; Vollmar, 1994; Richter und Vollmar, 2001). Die regulative Größe scheint allein der portalvenöse Blutfluss und nicht etwa der metabolische Bedarf der Leber zu sein (Lautt, 1977; Lautt, 1980). Bereits 1911 hat Burton-Opitz einen gesteigerten hepatoarteriellen Blutfluss bei erniedrigtem portalvenösem Fluss beobachtet (Burton-Opitz, 1911).

Aufgrund der Komplexität der hepatischen Mikrozirkulation stellt sich die Frage nach dem Regulationsmechanismus und der Lokalisation der HADR. Die HADR wird durch den Mediator Adenosin vermittelt. Die Adenosin-vermittelte Dilatation der Leberarterie findet im sogenannten „space of Mall“ statt, in welchem sich die terminalen Äste von Pfortader und Leberarterie in unmittelbarer Nachbarschaft befinden, bevor sich diese zu gemischtvenösem sinusoidalen Blut vereinigen. Im „space of Mall“ umschlingen feine hepatoarterielle Verästelungen die Portalvenolen, so dass hier eine große Kontaktfläche der Endothelien beider Gefäßsysteme vorliegt (Abbildung 3) (Mall, 1906; Ezzat, 1987).

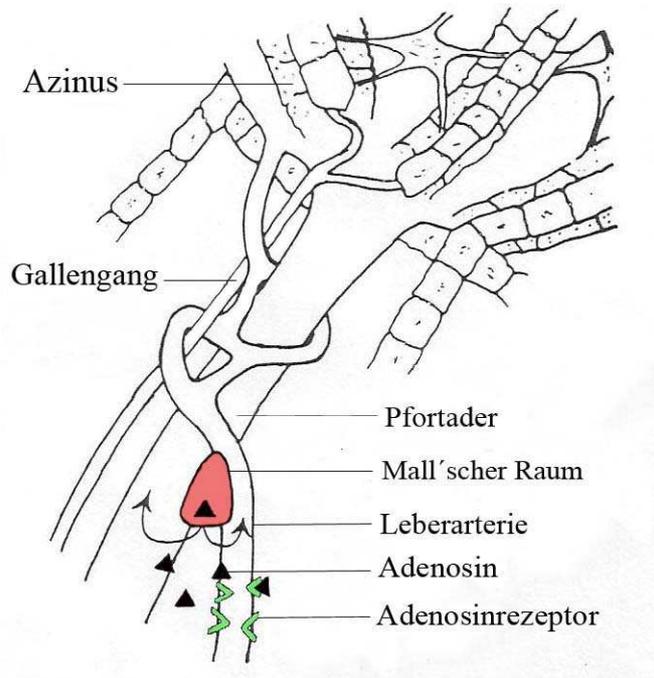


Abbildung 3: „space of Mall“ (▲) mit konstitutiver Adenosinproduktion. Das in die Umgebung diffundierende Adenosin (▲) wird bei hohem Fluss der Pfortader durch diese „ausgewaschen“, wodurch die lokale Konzentration von Adenosin sinkt und die konstringierende Wirkung über Adenosinrezeptoren (◀) an der Leberarterie abnimmt. Umgekehrt führt ein geringer Pfortaderfluss zu einer lokalen Akkumulation von Adenosin mit entsprechender Dilatation der Leberarterie und konsekutiv höherem hepatoarteriellen Blutfluss (nach: Ezzat, 1987).

Konstitutiv wird vom venulären Endothel Adenosin synthetisiert und diffundiert ins Pfortaderblut, so dass die Konzentration dieses Adenosins vom portalvenulären Blutfluss abhängt. Je nach Fluss wird es mehr oder weniger ausgewaschen und hat eine geringere oder höhere lokale Adenosinkonzentration zur Folge (Ezzat, 1987; Richter, 2001). Bei geringem Pfortaderblutfluss ist dieser „wash-out“-Mechanismus entsprechend reduziert und hat eine höhere lokale Adenosinkonzentration zur Folge. Die Akkumulation des Adenosins bewirkt in der benachbarten hepatoarteriellen Gefäßwand eine Dilatation des Gefäßes mit entsprechend erhöhtem arteriellen Blutfluss. Umgekehrt führt eine erhöhte portalvenöse Perfusion aufgrund des gesteigerten „wash-out“ zu erniedrigten lokalen Adenosinkonzentrationen, mit konsekutiver Konstriktion der Leberarterienäste und entsprechend niedrigem hepatoarteriellen Blutfluss (Ezzat, 1987; Richter, 2001).

Adenosin konnte in einer Vielzahl von Experimenten als der Transmitter der HABR nachgewiesen werden. So kann zum einen durch die Infusion von Adenosin eine direkte Dilatation der Leberarterie verursacht werden (Ezzat, 1987; Lauth, 1996).

Wesentliche Erkenntnisse zu diesem Regulationsmechanismus gehen, neben Studien von Kock (1972) und Mathie und Blumgart (1983), hauptsächlich auf Arbeiten von Lauth zurück (1981). Unter physiologischen Bedingungen kann eine portalvenöse Blutflussreduktion von ca. 25% durch eine Erhöhung des hepatoarteriellen Flusses im Sinne einer „Hepatic Arterial Buffer Response“ kompensiert werden (Mathie und Blumgart, 1983; Lauth, 1996). Der Regulationsmechanismus kann wiederholt und in unveränderter Stärke ausgelöst werden und bleibt über einen längeren Zeitraum bei portalvenöser Flussreduktion bestehen, sowohl unter physiologischen Bedingungen als auch bei leberzirrotischen Tieren (Richter, 2000). Inwieweit die Leberdurchblutung unter pathologischen Bedingungen wie der Leberresektion einer Regulation durch den HABR unterliegt, wurde untersucht (Dold, 2006). Allerdings wurde bis jetzt noch nicht der Regulationsmechanismus der HABR bei Leberresektion identifiziert.

1.3. Endogene Mediatoren zur Regulation der Leberdurchblutung

Eine Vielzahl von endogenen und extrinsischen Faktoren können den hepatischen Blutfluss über die zahlreichen kontraktilen Strukturen der hepatischen Mikrozirkulation, wie Endothelzellen, Kupffer'sche Sternzellen oder perivaskuläre Itozellen, regulieren (*Abbildung 4*).

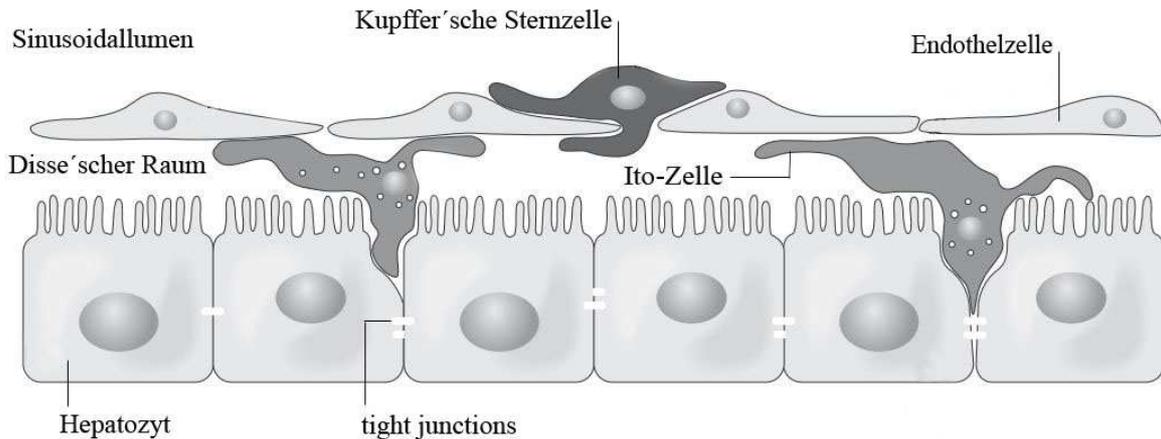


Abbildung 4: Schema eines Leberbalkens (nach: Vollmar und Menger, 2009)

Eine zusätzliche Modulation der hepatisch mikrovaskulären Strombahn wird auch prä- und postsinusoidalen Sphinkteren zugeschrieben (Oda, 2003). Zusätzlich bestehen zwischen terminalen Ästen der Arterie und einzelner Sinusoide sowie zwischen den terminalen arteriellen und portalvenösen Ästen Verbindungen, sogenannte shunts, die eine Aufrechterhaltung der mikrovaskulären Sauerstoffversorgung sowie eine homogene Leberdurchblutung gewährleisten (Richter und Vollmar, 2001).

Für die sinusoidale Perfusion konnten sowohl Substanzen mit dilatativer als auch mit konstriktiver Wirkung auf die hepatische Mikrozirkulation nachgewiesen werden.

1.3.1 Substanzen mit dilatativer Wirkung auf die hepatische Mikrozirkulation

Adenosin:

Adenosin ist dahingehend von zentraler Bedeutung, als dass die hepatic arterial buffer response wird durch diesen Mediator vermittelt wird (Ezzat, 1987). Adenosin ist der potenteste Vasodilatator überhaupt und wirkt über P1-Purinrezeptoren (A2 Subtyp) auf Gefäßmuskelzellen vasodilatatorisch (Fredholm, 2001). Adenosin wird zum einen hypoxie-abhängig über die Dephosphorylierung aus AMP, zum anderen hypoxie-unabhängig durch Hydrolyse aus S-Adenosylhomocystein freigesetzt. 8-Phenyltheophyllin ist z.B. ein nicht-kompetitiver Hemmer des Adenosinrezeptor Subtyp A1 (Lautt und Legare, 1985).

Stickstoffmonoxid:

Ein weiterer bedeutsamer Vasodilatator ist Stickstoffmonoxid (NO) (*Abbildung 5*).

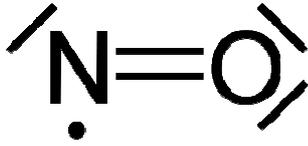


Abbildung 5: chemische Formel von Stickstoffmonoxid

Seit den siebziger Jahren ist bekannt, dass NO als Aktivator der Guanylatcyclase relaxierend auf glatte Muskulatur wirkt (De Rubertis und Craven, 1976; Arnold, 1977; Murad, 1978; Gruetter, 1979; Ignarro, 1981). NO wurde erstmals 1987 von Furchgott und Ignarro mit dem „endothelium-derived relaxing factor“ (EDRF) gleichgesetzt, der wiederum 1980 als der vom vaskulären Endothel sezernierte, relaxierende und damit vasodilatierende Faktor identifiziert wurde (Furchgott und Zawadzki, 1980). Es wurde damit erkannt, dass Stickstoffmonoxid eine entscheidende Rolle in der Regulation des basalen Gefäßtonus spielt (Fleming, 1999). Stickstoffmonoxid ist ein gasförmiges freies Radikal, welches aus der Aminosäure L-Arginin durch eine konstitutive NO-Synthase (NOS) freigesetzt wird, wobei L-Arginin in NO und L-Citrullin gespalten wird (*Abbildung 6*) (Suematsu, 1996).

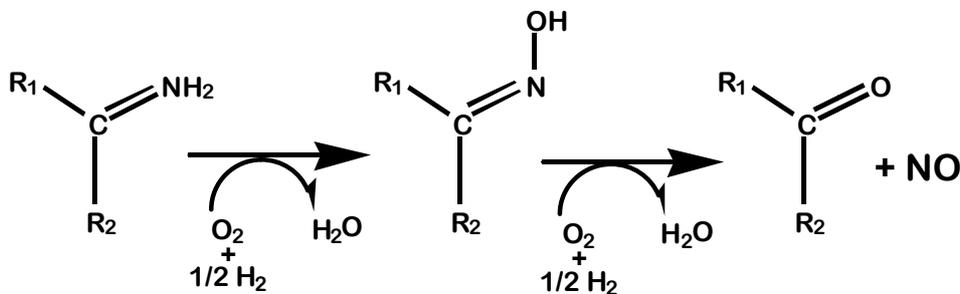


Abbildung 6: Die biochemische Bildung von NO aus der Aminosäure Arginin

NO ist ein hochdiffusibles Gas, welches die Zellmembran leicht überwinden kann. Es kann durch das Endothel in das Zytoplasma nahegelegener Gefäßmuskelzellen diffundieren. Dort aktiviert NO die Guanylatcyclase und führt damit zur gesteigerten Umwandlung von Guanosintriphosphat (GTP) in den second messenger Guanosin- 3`5`-Monophosphat (cGMP) (Maines, 1997; Pannen und Bauer, 1998). Dabei korreliert der cGMP-Anstieg mit der NO Wirkung (Siragy, 1992). Daraufhin werden durch die cGMP-abhängige Proteinkinase G verschiedene Zielproteine phosphoryliert. Daraus resultiert eine Abnahme der intrazellulären

Calciumkonzentration (Waldman, 1988) und folglich eine Dilatation der glatten Gefäßmuskelzelle (Abbildung 7). Das Arginin-Analogon L-Name ist ein kompetitiver Antagonist der NOS wird in Studien als NO Syntheseantagonist eingesetzt.

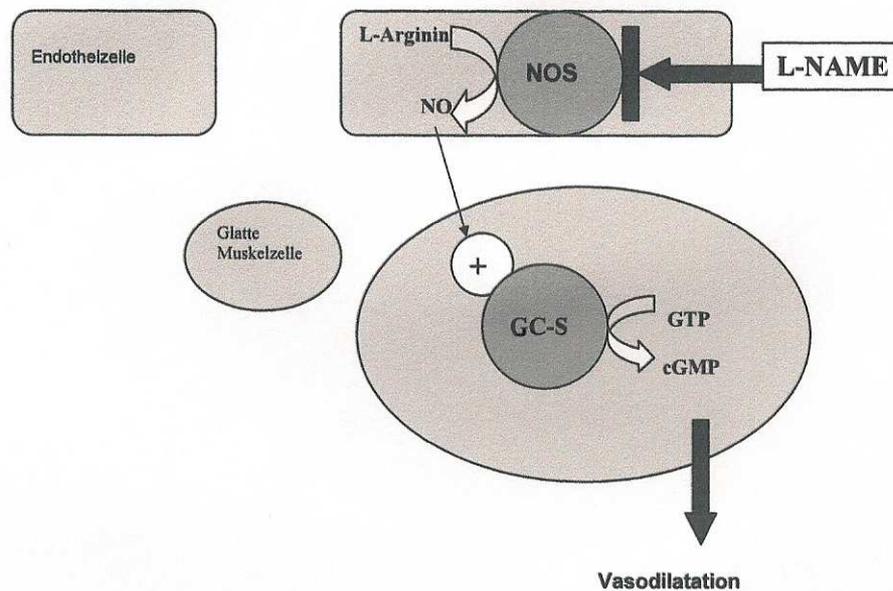


Abbildung 7: Wirkungsweise von Stickstoffmonoxid und L-Name. NOS = Stickstoffmonoxid -Synthase, GC-S = Guanylatcyclase, GTP = Guanosintriphosphat, cGMP = zyclisches 3'5'-Guanosinmonophosphat

NO hat im Organismus ein sehr kurze Halbwertszeit: Es wird innerhalb von Sekunden mit Sauerstoff und Wasser erst zu Nitrit und dann zu Nitrat oxidiert (Palmer, 1987). NO hat unterschiedliche Effekte: zusätzlich zu den biologischen Funktionen, inklusive Blutfluss-Regulierung und Thrombozytenaggregationshemmung (Moore, 2011), ist NO in einer Reihe von pathophysiologischen Prozessen involviert, wie Entzündung und Abwehr (z.B. bei Asthma bronchiale, Zhou, 2011), Neurodegeneration (z.B. bei Alzheimer oder Multiple Sklerose, Lassmann, 2011) oder beim Progress der Leberfibrose und des Leberzellschadens (Leung, 2011).

Drei Isoformen der NO-Synthase (NOS) konnten identifiziert werden: *nNOS*, *iNOS* und *eNOS*. *iNOS* und *eNOS* sind wasserlöslich und finden sich hauptsächlich im Cytosol, während *eNOS* membranassoziiert ist. *eNOS* und *nNOS* sind im menschlichen Körper konstitutiv exprimiert, weshalb sie manchmal auch gemeinsam als *cNOS* (konstitutive NOS)

bezeichnet werden - im Gegensatz dazu wird iNOS zwar auch konstitutiv, insbesondere jedoch nach Aktivierung durch Transkriptionsfaktoren vermehrt exprimiert.

1. neuronale NOS (nNOS, NOS1): nNOS entfaltet ihre Funktion vor allem im zentralen und peripheren Nervensystem, wo es als Neurotransmitter fungiert (Franklin, 1993). es wird konstitutionell in Nervenendigungen aber auch im Endothelzellen freigesetzt und ist z.T. induzierbar (Corpus pineale der Ratte). Mutationen der nNOS können Pylorusstenose Typ 1 (IHPS1) zur Folge haben (Saur, 2004).

2. induzierbare NOS (iNOS, NOS2): iNOS wird durch eine Vielzahl verschiedener Stimuli exprimiert; in glatten Muskelzellen, Myokard- und Epikardzellen z.B. steigt die NOS2-Bildung durch Endotoxine (Schulz, 1992); in der Leber wird sie bei Entzündung oder Hypoxie in Hepatozyten, Endothelzellen, Ito Zellen, Cholangiozyten und Kupffer Sternzellen exprimiert; weiterhin kann die Bildung von NOS2 durch spezifische Oxidantien, wie Hydrogenperoxid, gefördert werden (Drummond, 2000). NO ist vermutlich auch an der unspezifischen Immunabwehr beteiligt, da Makrophagen und Lymphozyten ebenfalls zur gesteigerten NOS2-Bildung beitragen (Green, 1981). Durch Bakteriengifte (Endotoxine) oder proinflammatorische Zytokine wird die iNOS induziert. Die bekanntesten Induktoren der iNOS in Makrophagen sind IFN- γ , Tumornekrosefaktor- α , Interleukin-1 β sowie bakterielle Lipopolysaccharide. Die Aktivität der iNOS ist kaum reguliert, sodass es nach Exprimierung zu einer schnellen, starken und langanhaltenden NO Synthese kommt. Die von der iNOS produzierte Menge an NO kann um das 1000-fache höher sein als durch die konstitutive eNOS. In dieser hohen Konzentration wirkt NO zytotoxisch und dient damit z.B. den Makrophagen zur Immunabwehr. Bei einer Sepsis kann dies jedoch problematische Folgen haben, da NO auch eine Rolle bei der Regulation der Gefäßweite spielt. (Bruch-Gerharz, 2003; Jacobsen, 2007; El Kasmi, 2008)

3. endotheliale NOS (eNOS, NOS3): eNOS wird durch erhöhte luminale Wandspannung und gesteigerte Scherkräfte von Endothelzellen vermehrt freigesetzt (Amal, 1999). Eine weitere Bedeutung hat außerdem die Regulation über die intrazelluläre Calciumkonzentration. Die aktive Form der eNOS besteht aus einem heterogenen Tetramer, aus zwei Monomeren eNOS Molekülen und zwei Ca²⁺/Calmodulin-Komplexen. Bei niedriger intrazellulärer Calciumionen-Konzentration bildet sich diese aktive Form nicht aus, kann aber alternativ durch Phosphorylierung auch bei Ruhe-Calciumionen-Konzentrationen aktiviert werden (Bruch-Gerharz, 2003; Jacobsen, 2007; El Kasmi, 2008).

Eine Hemmung der durch die NOS vermittelten NO-Synthese kann über die Verfügbarkeit des Substrates L-Arginin erreicht werden, beispielsweise durch Erhöhung der Expression der extrahepatischen Form des kompetitiven Enzyms Arginase, welche L-Arginin zu L-Ornithin und Harnstoff spaltet und durch die Interleukine 4, 10 und 13 sowie bakterielle Lipopolysaccharide induziert wird. Neutrophile Granulozyten modulieren die Immunantwort durch Sekretion von Arginase. In Psoriasisläsionen zum Beispiel, wird Arginase überexprimiert, was zu verminderter Verfügbarkeit von Stickstoffmonoxid im Gewebe führt (Bruch-Gerharz, 2003; Jacobsen, 2007; El Kasmi, 2008).

Außerdem wird NO bei Anwesenheit folgender Substanzen vermehrt gebildet: neben Acetylcholin und ATP zählen dazu auch ADP, Adenosin, Histamin, Thrombin, Bradykinin, Serotonin und Substanz P (Furchgott, 1989).

Das durch NOS2 synthetisierte NO wird als eine frühe Anpassungsreaktion bei Entzündungen angesehen. Andererseits kann NO auch als Mediator des Zelltodes fungieren, wenn es im Exzess produziert wird (Clemens, 1999; Chen, 2003). Im Zusammenhang der Leberregeneration nach partieller Leberresektion oder eines postischämischen Reperfusionsschadens der Leber (Kawachi, 2000) scheint die NOS2, jedoch nicht die NOS1 (Grisham, 1998) eine wichtige Rolle zu spielen, weil die Inhibierung der NOS2 die Leberregeneration aufzuhalten und eine Zerstörung des Restgewebes zu verursachen scheint (Hortelano, 1995; Rai, 1998). Einige Wirkmechanismen des durch NOS2 nach Leberresektion produzierten NO wurden vorgeschlagen, einschließlich eines anti-apoptotischen Effektes (Zeini, 2005), die Sensibilisierung von Hepatozyten gegenüber mitotischen Einflüssen (Garcia-Trevijano, 2002) und Angiogenese (Carnovale, 2000). Andere Studien stellen NO als denjenigen Mediator dar, der einen postischämischen Reperfusionsschaden vermittelt durch die Bildung von Peroxynitrit, welches ein langlebiges, starkes Oxidans darstellt, das aus der Reaktion zwischen NO und Superoxid (O_2^-) entsteht (Huie, 1993). Andererseits stellen Studien das durch NOS2 gebildete NO als einen Neutralisator reaktiver Radikale, wie O_2^- , dar (Grisham, 1998). Diese widersprüchlichen Ergebnisse machen die Notwendigkeit der weiteren Erforschung des NO Systems unabdingbar. Der Mechanismus, dem die durch NO vermittelte Leberregeneration nach Leberresektion unterliegt, bleibt noch immer zu ergründen.

Kohlenmonoxid:

Über einen ähnlichen Weg wie NO wirkt Kohlenmonoxid (CO) gefäßrelaxierend. Dieses entsteht als Intermediärstoffwechselprodukt im Hämmetabolismus und wird ebenso durch ein konstitutives Enzym (HO-2) oder ein Stress induzierbares Isoenzym (HO-1, HSP 32) gebildet (Bauer, 1997; Pannen und Bauer, 1998). Während unter Normalbedingungen die HO-2 die vorherrschende Form in der Leber ist, findet sich bei oxidativem Stress wie bei Leberzirrhose oder nach Leberresektion eine bis zu 100-fache Erhöhung der HO-1 Aktivität (Maines, 1997). CO scheint eine wichtige Rolle bei der Regulation des vaskulären Tonus bei erhöhter HO-1 Aktivität zu spielen (Schuett, 2007), was von großer Bedeutung für die adäquate Perfusion und Regeneration der Leber ist. Weiterhin übt CO während eines Endotoxinschocks einen Schutz durch Erhöhung der hepatischen iNOS Expression aus (Sarady, 2004).

β_2 -Rezeptoren:

Die durch β -Adrenozeptoren vermittelte Vasodilatation spielt eine große Rolle in der Regulation des Gefäßtonus. β_2 -Rezeptoren stellen von allen β -Rezeptoren den vorherrschenden Subtyp in der glatten Gefäßmuskulatur dar (Guimarães, 2001), nur in den Koronarien (O'Donnell, 1985) und in zerebralen Gefäßen (Edvinsson, 1974) sind β_1 -Rezeptoren in der Mehrzahl. Die Signaltransduktion erfolgt bei β_2 -Rezeptoren über ein G-Protein, was zu einer Aktivierung der Adenylatzyklase und Erhöhung des second messengers cAMP führt (Dixon, 1986). Die maximale durch β_2 -Rezeptoren vermittelte Vasodilatation in der Pfortader beträgt jedoch weniger als 30% (Furuta, 1986).

1.3.2. Substanzen mit vasokonstriktorischer Wirkung auf die hepatische Mikrozirkulation

Das Hormon Endothelin wird in glatten Muskelzellen und anderen Geweben synthetisiert, außerdem wird es unter pathologischen Bedingungen wie der Leberzirrhose oder Hypoxie von einer Vielzahl von Zellarten, insbesondere von Endothelzellen, Makrophagen und Itozellen freigesetzt. Es besitzt eine 10-fach stärkere vasokonstringierende Wirkung als Angiotensin II (Yanagisawa, 1988). Endothelin existiert in drei Isoformen, ET-1, ET-2 und ET-3, welche ihre Wirkung über zwei Rezeptortypen ETA und ETB entfalten. ET-1 wird vor allem von Endothelzellen auf Reize wie niedriger Gefäßwiderstand, Vasopressin, Insulin, Angiotensin II, Katecholamine, transforming growth factor- β , Thrombin und lowdensity Proteine

ausgeschüttet (Schiffrin, 1995). Das Endothelin-System scheint räumlich und funktionell in enger Beziehung zum NO-System zu stehen. Endothelin stimuliert das Endothel zur Produktion und Ausschüttung von Prostacyclin und Stickstoffmonoxid (NO) (Schiffrin, 1998). NO hingegen hemmt die Freisetzung von Endothelin (D'Amours, 1999). In der Leber verursacht ET-1 zum einen über ET-B Rezeptoren auf Endothelzellen und Kupffer'schen Sternzellen, zum anderen über ET-A Rezeptoren auf perisinusoidalen Ito-Zellen eine Vasokonstriktion (Bauer, 1994).

Einige Mediatoren, wie der bei Entzündung und Ischämie freigesetzte platelet-activating factor (PAF) (Mendlovic, 1984) oder ATP (Ballet, 1990) rufen eine Vasokonstriktion durch Freisetzung sinusoidaler Eikosanoide wie Prostaglandine, Thromboxane oder Leukotriene hervor.

Die sympathische Innervation der Leber erfolgt über Adrenozeptoren. Die α -Adrenozeptor vermittelte Vasokonstriktion in Arterien erfolgt hauptsächlich über α_1 -Adrenozeptoren, wohingegen die Vasokonstriktion in Venen über beide Rezeptortypen (α_1 und α_2) vermittelt wird. Im mesenterialen Gefäßbett übertrifft der α -Adrenozeptor-vermittelte Effekt denjenigen der β -Adrenozeptoren. In Mesenterialgefäßen kommen hauptsächlich α_1 -Adrenozeptoren vor (Guimarães, 2001).

Trotz der Analyse adrenerger, cholinergischer und neuronaler Mechanismen in der Regulation der Leberperfusion konnte klinisch noch keine medikamentöse Therapie etabliert werden, mit der sich die Leberperfusion verbessern lässt. Desgleichen blieben die zahlreichen experimentellen Ansätze mit vasodilatierenden oder vasokonstringierenden Substanzen bisher ohne klinische Relevanz. Die meisten pharmakologischen Untersuchungen der Leberdurchblutung unter besonderer Berücksichtigung des hepatoarteriellen und portalvenösen Blutflusses erfolgten, um die zugrundeliegenden Regulationsmechanismen zu untersuchen. Erste Ansätze der medikamentösen Therapie zur Verbesserung der Leberdurchblutung finden sich in Untersuchungen von Schoen und Wang (2001), in denen gezeigt wird, dass nach einer ausgedehnten Leberresektion ein verabreichter Stickstoffmonoxid-Donor die Leberregeneration fördert. In vorliegender Arbeit wird die Rolle Stickstoffmonoxids bei der Leberdurchblutung teilresezierter Lebern genauer untersucht.

Weiterhin wird über einen anderen Ansatz die Untersuchung zugrundeliegender Regulationsmechanismen des hepatoarteriellen und portalvenösen Blutflusses angegangen, z.B. fanden noch keine genaueren Untersuchungen zur Bestimmung der Rolle von Kaliumkanälen teilresezierter Lebern statt. Das als Inotropikum zugelassene Medikament

Levosimendan wirkt durch Sensibilisierung kardialer Myofilamente gegenüber Kalziumionen („Kalzium-Sensitizer“), außerdem wirkt es vasodilatatorisch durch die Aktivierung adenosintriphosphatsensitiver Kaliumkanäle und Hemmung der Phosphodiesterase-III (Rehberg, 2006). Die peripher vasodilatierende Wirkung von Levosimendan könnte für die Leberperfusion von besonderer Bedeutung sein und wird im Folgenden genauer erörtert. Ein Einfluss auf die Leberdurchblutung bei gesunder sowie teilresezierter Leber ist durchaus denkbar und wird in dieser Arbeit untersucht.

1.4. Lebererkrankungen

Die Leber repräsentiert das zentrale Stoffwechselorgan des Organismus. Ihre wesentlichen Funktionen bestehen in Speicherung von z.B. Glykogen, Eisen, Fett und Vitaminen; Synthese und Metabolismus von Plasmaproteinen, Hormonen, Gerinnungsfaktoren, Cholesterin, Gallensäuren und Harnstoff; homöostatische Regulation des Glucose-, Aminosäure- und Fettsäurespiegels; embryonale Blutbildung bis zum 7. Schwangerschaftsmonat, Abbau von Erythrozyten als Milzersatz sowie Proteolyse und Lipolyse, z.B. zur Hormoninaktivierung, wie Insulin, Aldosteron, Cortisol, Noradrenalin. Außerdem hat sie eine Entgiftungs- und Exkretionsfunktion von körperfremden und körpereigenen Stoffen.

Die Leberperfusion ist insofern von Bedeutung, als dass sie einen wesentlichen Teil zur Verbesserung und Beschleunigung der Leberregeneration, beispielsweise nach ausgedehnter Leberresektion, beiträgt.

Bisher erfolgten die meisten pharmakologischen Untersuchungen der Leberdurchblutung unter besonderer Berücksichtigung des hepatoarteriellen und portalvenösen Blutflusses, um die zugrundeliegenden Regulationsmechanismen zu untersuchen. Studien zur Leberperfusion unter pathophysiologischen Bedingungen nahmen nur einen geringen Stellenwert ein und blieben ohne klinische Auswirkungen. Erst in den letzten Jahren wurde die Rolle der hepatic arterial buffer response (HABR) unter pathophysiologischen Bedingungen wie Leberresektion (Dold und Richter 2006), hypovolämischem Schock (Kinoshita, 1995), Leberzirrhose (Richter und Mücke, 2000) oder erhöhtem intraabdominellen Druck (Richter und Olinger, 2001) Gegenstand experimenteller Studien. Jedoch konnte klinisch noch keine medikamentöse Therapie etabliert werden, mit der sich die Leberperfusion verbessern ließ. Diese Arbeit beschäftigt sich daher mit der Leberperfusion speziell nach einer Leberresektion. Es werden verschiedene Mechanismen, endogene Mediatoren und ihre Rolle bei der Leberdurchblutung

insbesondere nach einer Leberresektion diskutiert und medikamentöse Ansätze zur Verbesserung der Leberdurchblutung nach Leberresektion erörtert.

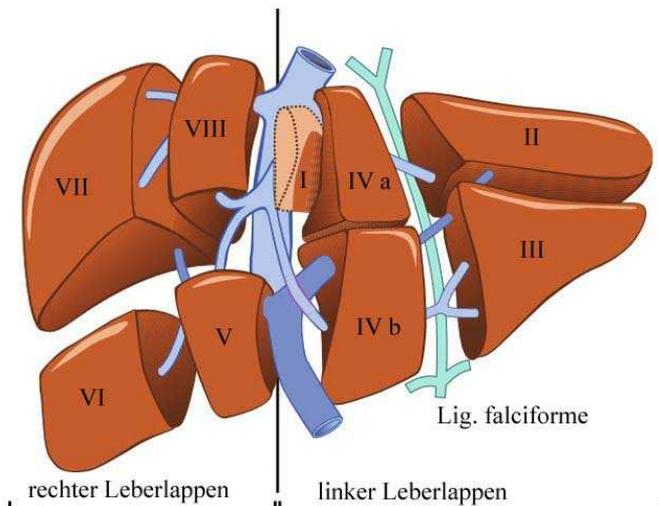
1.4.1. Chirurgische Therapieansätze

1.4.1.1. Leberresektion

Die Leberresektion stellt eine wichtige Therapieoption in der Behandlung von Lebererkrankungen dar. Als chirurgisch therapierbare Erkrankungen sind Traumata, Zysten (kongenitale, Echinococcus granulosus oder multilocularis), Abszesse, benigne (Leberzelladenome, kavernoöses Hämangiom) und maligne Tumoren (hepatozelluläres Karzinom, cholangiozelluläres Karzinom, Hepatoblastom, Sarkom, Zystadenokarzinom, Metastasen) zu nennen. Hinzu kommen Erkrankungen der Leber, die andere Organsysteme beeinflussen und somit einer chirurgischen Therapie bedürfen. Zu nennen sind hier die Leberzirrhose mit portaler Hypertension, das akute und chronische Leberversagen, zentrale Gallenwegs- und Stoffwechselerkrankungen.

Die Resektion von Leberanteilen richtet sich nach Möglichkeit nach den anatomischen Gegebenheiten, also nach den Lebersegmenten. Die Unterteilung der Leber in ihre einzelnen Segmente ist beim Menschen - mit Ausnahme des Lobus caudatus, welcher ein eigenes Segment darstellt - nicht erkennbar, da die einzelnen Segmente im Rahmen der Organogenese miteinander verschmolzen sind. Die ausgeprägte interindividuelle Varianz der segmentalen Blutversorgung und damit der Segmentgrenzen erschwert deren Identifikation. Bezüglich der Segmenteinteilung der Leber existieren verschiedene Vorschläge, wobei die Einteilung nach Couinaud in acht Segmente (Couinaud, 1954) eine allgemein akzeptierte und die am meisten verwendete darstellt (*Abbildung 8*).

Ausgedehnte Leberresektionen und Lebertransplantation sind oft die einzigen Möglichkeiten zur Therapie einer schweren Lebererkrankung, insbesondere von Lebertumoren. Das Ausmaß der Leberresektion bei der Entfernung von Primärtumoren oder von Metastasen wird bestimmt durch die Größe des Tumors (Lupinacci, 2007). Moderne chirurgische Methoden, wie z.B. die präoperative Embolisation, erweitern die chirurgischen Möglichkeiten der Resektion und ermöglichen einen kurativen operativen Ansatz sogar bei multiplen bilobulären Tumoren (Vauthey, 2005).



Resektionsform:	Segmente:
<i>Lobektomie links</i>	<i>II, III</i>
<i>Hemihepatektomie li.</i>	<i>II, III, IVa, IVb</i>
<i>Erweiterte Hemihepatektomie li.</i>	<i>II, III, IVa, IVb, V, VIII</i>
<i>Hemihepatektomie re.</i>	<i>V, VI, VII, VIII</i>
<i>Erweiterte Hemihepatektomie re.</i>	<i>V, VI, VII, VIII, IVa, IVb</i>
<i>Atypische Resektion</i>	<i>Keine anatomisch definierten Grenzen</i>

Abbildung 8: Chirurgische Anatomie der Leber mit Resektionsformen (nach: Siewert, 2006)

Die Grenze zu finden zwischen einer sicheren Resektion des malignen Gewebes, inklusive eines mikroskopisch freien Randes, und des Belassens einer genügend großen Restleber ist noch immer problematisch (Mullin, 2005). Während eine Restleber von nur 10% des Ausgangsgewichtes für das Überleben von Ratten ausreicht (Chang, 2004), führt bei Menschen ein Restlebervolumen unter 27% zu einer erhöhten Inzidenz von schweren Leberfunktionsstörungen und Leberversagen (Schindl, 2005). Da ein chirurgischer Eingriff immer zu einer Verkleinerung des Lebervolumens führt, ist die Eigenschaft der Leber zur Regeneration und Wiedererlangung des verlorenen Lebergewebes von zentraler Bedeutung (Michalopoulos, 1997).

1.4.1.2. „Small-for-size“ Syndrom als eine wichtige Komplikationen bei Größenreduzierten Lebern

Im Rahmen einer ausgedehnten Leberresektion oder nach einer Größenreduzierten Lebertransplantation kann das sogenannte „small-for-size“ Syndrom auftreten (Dahm, 2005). Es ist assoziiert mit schwerer Leberfunktionsstörung, Koagulopathie, Hyperbilirubinämie, Aszites, Cholestase, Enzephalopathie oder sogar Leberversagen, assoziiert mit Lungen oder Nierenversagen.

Laufende Debatten über die Ursachen des „small-for-size“ Syndrom fokussieren hauptsächlich auf portaler Hyperperfusion mit hohen intravaskulären Scherspannungen (Glanemann, 2005; Demetris, 2006). Studien beschreiben das „small-for-size“ Syndrom als

eine insuffiziente Gewebeoxygenierung, die als Konsequenz einer hepatoarteriellen Hypoperfusion zustande kommt (Lautt, 1990; Schoen, 2001), die wiederum ihre Ursache in der portalen Hyperperfusion findet (Smyrniotis, 2002). Ein Therapieansatz in der Behandlung des „small-for-size“ Syndroms könnte dementsprechend die Reduktion des portalvenösen Druckes sein. Glanemann et al. (2005) reduzierten das postoperative portale Hyperperfusionssyndrom in small-for-size–Lebern durch Splenektomie und zeigten damit eine Verminderung von Leberzellzerstörung.

Die portale Hyperperfusion spielt sowohl im postoperativen Verlauf einer Lebertransplantation als auch nach einer ausgedehnten Leberresektion eine Rolle. Es stellt sich die Frage, ob die durch eine Leberresektion verursachte portale Hyperperfusion ebenfalls zu einer hepatoarteriellen Hypoperfusion führt, wie es nach einer Lebertransplantation der Fall ist. Einerseits haben Boermeester et al (1999) tatsächlich einen erniedrigten hepatoarteriellen Fluss im Anschluss an eine zwei Drittel Leberresektion nachgewiesen. Auf der anderen Seite haben Dold et al. (2006) diese sogenannte „negative“ HABR, also die Tatsache, dass der Blutfluss in der Leberarterie durch Erhöhung des portalvenösen Flusses absinkt, widerlegt. Diese Autoren konnten zeigen, dass durch eine ausgedehnte Leberresektion der portalvenöse Blutfluss zwar ansteigt, der hepatoarterielle aber gleich bleibt, was gegen die Theorie der „negativen“ HABR spricht und auch die Vermutung, dass das „small-for-size“ Syndrom nach Leberresektion durch eine auf die portale Hyperperfusion folgende hepatoarterielle Minderperfusion entsteht, widerlegt. Dold et al. fanden ebenfalls heraus, dass die Gewebeoxygenierung in der resezierten Leber trotz des gleichgebliebenen hepatoarteriellen Flusses abgenommen hatte, und die Gallenproduktion zugenommen hatte. Sie erklärten diese Beobachtung damit, dass der Grund in der schlechten Gewebeoxygenierung nicht in einem erniedrigten arteriellen Fluss läge, sondern in einem erhöhten Gewebestoffwechsel und einer verstärkten Leberfunktion zu finden sei, die zu einem erhöhten Sauerstoffverbrauch durch die Hepatozyten führe. Folglich könne die Ursache des „small-for-size“ Syndrom also schon in einer insuffizienten Gewebeoxygenierung liegen, welche jedoch nicht Folge einer hepatoarteriellen Hypoperfusion sei. Im Einklang dazu stehen die Forschungsergebnisse von Kostopanagiotou et al. (2007) und Kameoka et al. (1996), die das Fehlen einer „negativen“ HABR nach partieller Leberresektion demonstrierten.

Forschungen zur Erklärung der fehlenden „negativen“ HABR nach ausgedehnter Leberteileresektion wiesen ein Ungleichgewicht zwischen vasokonstriktorisches und vasodilatatorischen Mediatoren in resezierten Lebern nach (Palmer und Minin, 2005). Eine

Erklärung für die Ursache der nicht eintretenden „negativen“ HABR bei portalvenöser Hyperperfusion könnte folgende sein: Nach einer Leberresektion kommt es zu einer erhöhten Expression der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) und der induzierbaren Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) (Hortelano, 1995), was zu einer vermehrte Freisetzung von Stickstoffmonoxid führt und schließlich den Adenosin- „wash-out“ -Mechanismus überwiegt, was folglich zu einer Vasodilatation der Leberarterie führt. Auch Macedo und Lauth zeigten, dass erhöhte Scherspannungen die Freisetzung von NO induzieren, was die arterielle Konstriktion supprimiert (Macedo und Lauth, 1998). Das Fehlen des Vasodilators Stickstoffmonoxid und die hierdurch beeinträchtigte Leberdurchblutung könnten von großer Bedeutung für das Entstehen des „small-for-size“ Syndroms sein. Außerdem ist Stickstoffmonoxid in der richtigen Dosierung ein Trigger der Leberregeneration (Schoen, 2001) und ein zytoprotektives Agens (Li, 1999). Demnach könnte der Mangel an Stickstoffmonoxid, als Folge von verringerter Regeneration und verminderter Zytoprotektion, zur Entstehung des „small-for-size“ Syndroms beitragen. In diesem Zusammenhang könnte eine Analyse der genaueren Rolle des NO einen therapeutischen Ansatz zur Behandlung des „small-for-size“ Syndroms liefern. Cantré et al (2008) zeigten durch die Zufuhr des Stickstoffmonoxid-Donors Molsidomin bzw. durch die Blockade der eNOS, dass Stickstoffmonoxid eine entscheidende Rolle bei der Regeneration der teilresezierten Leber und Reduzierung von Leberschäden spielt. Das vorliegende Modell der 70 prozentigen Leberresektion wurde demzufolge zur Untersuchung des Einflusses von Stickstoffmonoxid auf die Leberdurchblutung und demnach Regeneration von resezierten Lebern durch Blockierung der Stickstoffmonoxid-Synthase verwendet.

1.5. Wahl der Medikamente

1.5.1. N (G)-Nitro-L-Arginin Methyl Ester (L-Name)

Da Stickstoffmonoxid (NO) im Organismus eine sehr kurze Halbwertszeit hat, ist es kaum möglich, von NO oder dessen Abbauprodukten verlässliche Spiegelbestimmungen durchzuführen. Deshalb bedient man sich bei der Erforschung des NO-Systems in vivo der Gabe von NO-Syntheseantagonisten. Durch die Blockade der NO-Synthese und der daraus folgenden ausbleibenden Effekte des NO schließt man dann indirekt auf die Wirkung von NO.

L-Name (NG-Nitro-L-Arginin-methyl-ester) ist Analogon der nicht essentiellen Aminosäure L-Arginin (*Abbildung 9*) und blockiert als kompetitiver Antagonist die NO-Synthasen I, II und III (Vos, 1997).

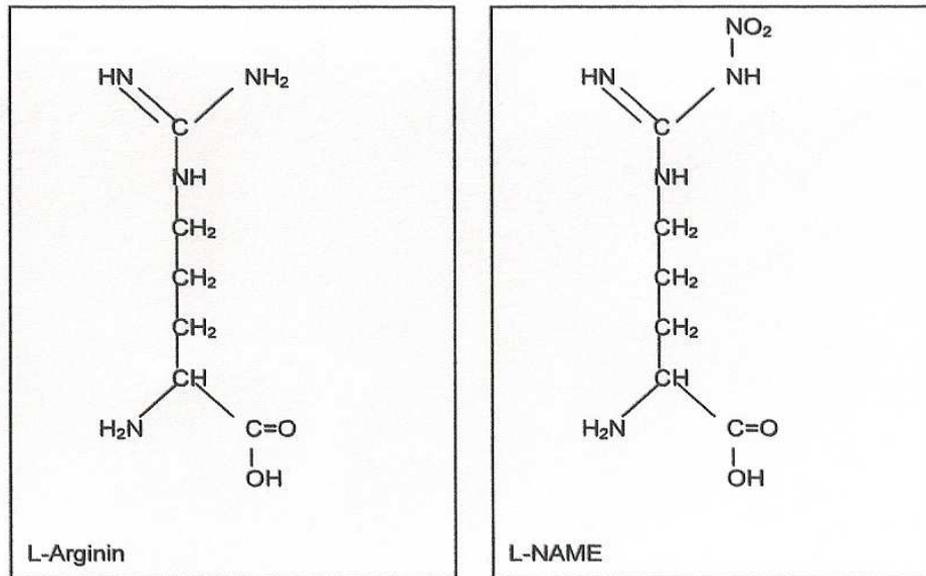


Abbildung 9: Strukturformeln von L-Arginin und L-Name

L-Name wird in Studien als NO Syntheseantagonist eingesetzt (*Abbildung 7*) und kann durch L-Arginin komplett antagonisiert werden (Morley, 1992).

Sander et al. untersuchten die Gabe von L-Name am Menschen. Es wurde darunter ein Anstieg des Blutdrucks, am ausgeprägtesten des diastolischen Blutdrucks, und ein Abfall der Herzfrequenz beobachtet. Außerdem vermuteten sie neben der Hemmung der NO-Synthasen eine zentrale Wirkung von L-Name, die eine Sympathikusaktivierung verursacht und damit für die protrahierte L-Name-Wirkung verantwortlich sein könnte: 1-2 Stunden nach intravenöser Gabe war diese Wirkung am stärksten. Alle gemessenen Parameter erreichten spätestens 24 Stunden nach Gabe von L-Name wieder ihren Ausgangswert.

Da NO ein wichtiger Mediator in der Regulierung der Leberperfusion zu sein scheint, wurde zur Untersuchung der Rolle des NO bei der Leberdurchblutung nach Leberresektion in dieser Arbeit daher L-Name verwendet. Durch Antagonisierung der NO Synthese mit L-Name und durch den Vergleich des Leberblutflusses mit Kontrolltieren, bei denen keine Blockade des NOS-Systems erfolgte, kann die Rolle des Stickstoffmonoxids bei Leberteileresektion ermittelt werden.

1.5.2. Levosimendan

Der „Kalzium-Sensitizer“ Levosimendan (*Abbildung 10*) steht aktuell im Blickpunkt der intensivmedizinischen Forschung, da er den klassischen Inotropika bei der Therapie der akut dekompensierten Herzinsuffizienz möglicherweise überlegen sein könnte.

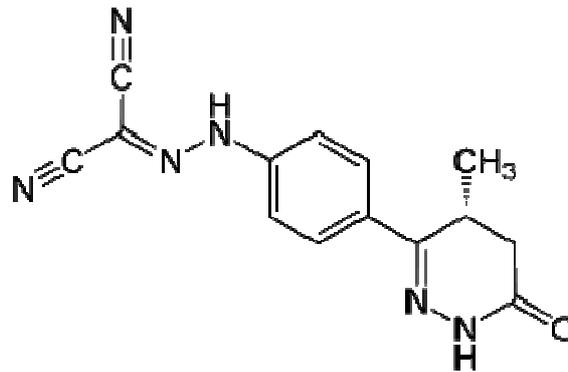


Abbildung 10: Strukturformel von Levosimendan. Systematischer Name: (R)-([4-(1,4,5,6-Tetrahydro-4-methyl-6-oxo-3-pyridazinyl)-phenyl]-hydrazono)-Propandinitril. Summenformel: C₁₄H₁₂N₆O

Seine Wirkung beruht im Wesentlichen auf drei Mechanismen:

- 1) positive Inotropie durch die Sensibilisierung der kardialen Myofilamente gegenüber Kalziumionen,
- 2) Vasodilatation durch die Aktivierung adenosintriphosphatsensitiver Kaliumkanäle und
- 3) Hemmung der Phosphodiesterase-III (Rehberg, 2006).

Da Levosimendan sowohl positiv inotrop als auch gleichzeitig vasodilatatorisch wirkt, wird es auch als Inodilator bezeichnet.

Positiv-inotrope Substanzen gehören in der Intensivmedizin zur Basistherapie bei eingeschränkter Myokardfunktion. Klassische positiv inotropische Substanzen, wie z.B. β_1 -Adrenoceptor-Agonisten und Phosphodiesterase (PDE)-III-Inhibitoren, scheinen in der Langzeitbehandlung der chronischen Herzinsuffizienz einen negativen Einfluss zu haben, der auf den Wirkmechanismus dieser Medikamente zurückzuführen ist: intrazellulärer myozytärer cAMP Anstieg, der einen intrazellulären Ca²⁺ Anstieg durch vermehrte Freisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum bewirkt. Die intrazelluläre Kalzium- (Ca²⁺-)Anreicherung geht mit einer erhöhten Kontraktilität, aber auch mit einem steigenden myokardialen Sauerstoffbedarf, plötzlichem Herztod und Arrhythmogenität einher (Toller, 2006).

Folglich konzentrierten sich neueste Untersuchungen auf die Entwicklung positiv inotroper Substanzen ohne den myokardialen Sauerstoffbedarf zu erhöhen oder die Gefahr von Arrhythmien zu erhöhen. Es wurden sogenannte „myofilament Ca^{2+} sensitizers“ entwickelt, die die Fähigkeit besitzen, die Kontraktilität zu verbessern, indem sie die Empfindlichkeit des Myokards gegenüber Kalzium erhöhen, wenn auch durch unterschiedliche Wirkmechanismen, Wirksamkeit und Wirkorte. Levosimendan gehört zu der neuen Wirkstoffgruppe der „Kalzium-Sensitizer“. Es wirkt durch eine Steigerung der Empfindlichkeit der Myofilamente gegenüber Ca^{2+} positiv-inotrop ohne den cAMP und Ca^{2+} Spiegel zu erhöhen, hat somit keinen negativen Einfluss auf Herzrhythmus oder die diastolische Funktion.

Levosimendan führt bei Patienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Funktion zu einem Anstieg des Schlagvolumens und des Herzindex (HI=Herzminutenvolumen pro Körperoberfläche in l/min/m²) (Slawsky, 2000). Hierdurch kommt es zu einer Steigerung des Herzzeitvolumens und damit zu einer Erhöhung des Sauerstoffangebotes sowie der gemischtvenösen Sättigung (Pagel, 1996; Morelli, 2005; Morelli, 2006; Rehberg, 2006).

Ein weiterer wichtiger Wirkmechanismus von Levosimendan besteht in der Vasodilatation durch Öffnung von Kalium- (K^+ -)Kanälen (Kopustinskiene, 2001, 2004). In der glatten Muskulatur führt die Aktivierung Adenosintriphosphat- (ATP-)sensitiver K^+ -Kanäle (K^+_{ATP} -Kanäle) in kleinen Widerstandsgefäßen sowie Ca^{2+} - und spannungsabhängigen K^+ -Kanälen in den großen Leitungsgefäßen (Yokoshiki, 1997) zu einer Vasodilatation in den pulmonalen (Witt, 2002), koronaren (Michaels, 2005), zerebralen, renalen, mesenterialen (Pagel, 1996) und systemischen Arterien (Pagel, 1996; Pataricza, 2003; Yokoshiki, 2003; Slawsky, 2000), sowie portalen (Pataricza, 2000) und systemischen Venen (Pagel, 1996; Slawsky, 2000). *Abbildung 11* stellt den vasodilatatorischen Mechanismus von Levosimendan auf Molekularer Ebene dar.

Es wird berichtet, dass die LV-Füllungsdrücke durch die systemische Vasodilatation verringert werden (Pagel, 1996). Des Weiteren erhöht sich der Blutfluss zu den Geweben, wie z.B. der Mukosa des Magens (Schwarte, 2005), dem Nierenmark, dem Dünndarm sowie der Leber (Pagel, 1996) und verbessert somit deren Oxygenierung (Morelli, 2005; Schwarte, 2005). Die Vasodilatation im pulmonalen Kreislauf senkt den pulmonalvaskulären Widerstandsindex (Nieminen, 2000) und die rechtsventrikulären Füllungsdrücke (Slawsky, 2000); dies führt zusammen mit der positiven Inotropie von Levosimendan zu einer

Steigerung der Kontraktilität und mechanischen Effektivität des rechten Ventrikels (Ukkonen, 2000; Toller, 2006).

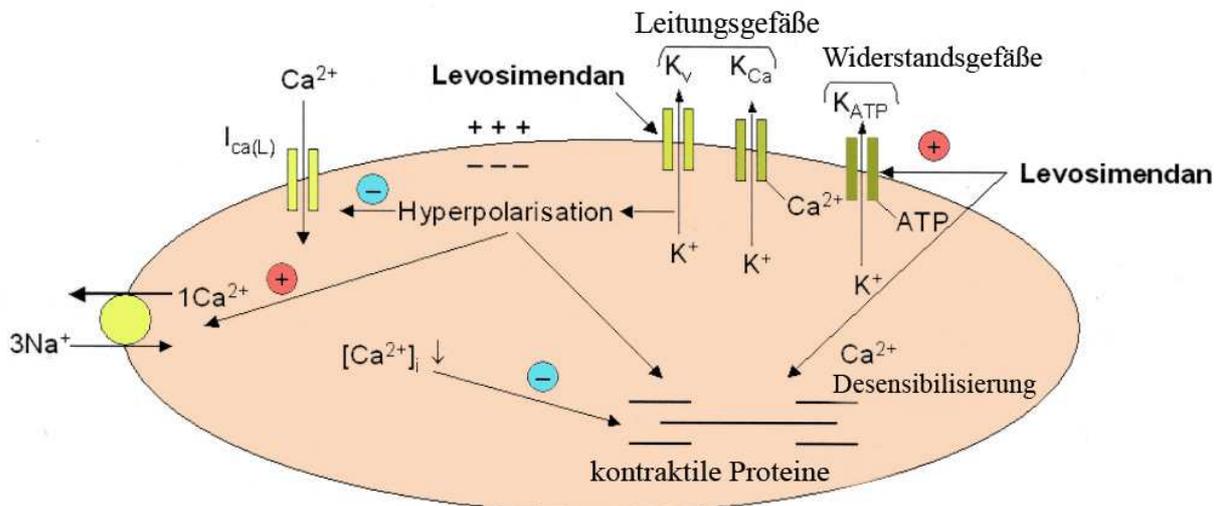


Abbildung 11: Vasodilatatorischer Mechanismus von Levosimendan: Dargestellt ist eine Zelle der glatten Muskulatur. Levosimendan stimuliert Adenosintriphosphat- (ATP-)sensitive K^+ -Kanäle (K_{ATP}^+) in kleinen Widerstandsgefäßen sowie Ca^{2+} - (K_{Ca}) und spannungsabhängige K^+ -Kanälen (K_v) in den großen Leitungsgefäßen. Es kommt zu einer Hyperpolarisation der Membran und folglich zu einer Blockade des L-Typ Ca^{2+} -Einwärtsstroms ($I_{ca(L)}$), sowie zu einem Antrieb der Na^+ - Ca^{2+} -Pumpe mit Ausschleusung von Calcium und Einschleusung von Natrium. Der resultierende Abfall des intrazellulären Ca^{2+} -Spiegels führt zu einer Vasodilatation. Levosimendan könnte ebenfalls die Empfindlichkeit der Myofilamente für Ca^{2+} direkt oder indirekt durch die Hyperpolarisation senken und somit eine Vasodilatation verursachen (nach: Toller, 2006).

Eine klinisch untergeordnete Rolle spielt wahrscheinlich die Hemmung der Phosphodiesterase (PDE)-III durch Levosimendan (Hasenfuss, 1998). Trotz seiner strukturellen Ähnlichkeit zu den PDE-III-Inhibitoren erhöht Levosimendan die intrazelluläre zyklische Adenosinmonophosphat- (cAMP-)Konzentration nicht (Papp, 2005). Des Weiteren ist der intrazelluläre Ca^{2+} -Spiegel nicht ausgeprägt genug, um die positive Inotropie von Levosimendan zu erklären (Papp, 2005).

Obwohl die Bedeutung und der relative Anteil des Beitrages zur Vasodilatation jeder dieser Mechanismen unklar ist, sich in verschiedenen Gefäßsystemen unterscheiden kann und von der Dosis des Medikaments abhängen kann, ist der Mechanismus der K^+ -Kanal Öffnung von entscheidender Relevanz für die Vasodilatation, während die Rolle der PDE-III Hemmung unklar bleibt. Der Mechanismus der Vasodilatation wurde bereits intensiv untersucht (Gruhn,

1998; De Witt, 2002), jedoch noch nicht endgültig geklärt. Fraglich bleibt weiterhin die Rolle des vasodilatatorischen Effektes auf Lebergefäße. Medikamente, die eine Vasodilatation in der portalen Zirkulation der Leber verursachen, könnten von Bedeutung bei der Behandlung der portalen Hypertension sein. Studien haben gezeigt, dass hyperpolarisierende Kalium-Kanäle in der Abnahme des portalvenösen Tonus unter physiologischen und pathologischen Bedingungen eine Rolle spielen (Mathie, 1996), wobei die ATP-sensitiven Kalium-Kanäle in der Regulierung des vaskulären Tonus der Pfortader besonders von Bedeutung sind (Kau, 1994; Perez-Guerrero, 1997). Pataricza et al (2000) zeigten zum ersten Mal, dass Levosimendan die offen-Wahrscheinlichkeit von ATP-sensitiven - K⁺ - Kanälen erhöht und folglich eine portalvenöse Vasodilatation bewirkt. Diese Tatsache ist von großer Bedeutung bei der Behandlung von Leberzirrhose und portaler Hypertension, z.B. Verursacht durch „small-for-size“ Lebertransplantation oder ausgedehnter Leberteilresektion. Auch scheint Levosimendan eine selektive Wirkung auf die Leberdurchblutung zu haben ohne den mesenterialen Bereich zu beeinflussen (Yokoshiki, 1996). Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung einer potentiellen Wirkung des Levosimendan auf die Leberperfusion durch Messung des portalvenösen und hepatoarteriellen Flusses in Abhängigkeit von einer Levosimendanapplikation. Eine eventuell positive Auswirkung auf die Leberdurchblutung könnte neue Ansätze zur Therapie der portalen Hypertension und begleitender Lebererkrankungen liefern, außerdem könnte es mit seiner vasodilatatorischen Wirkung in der Therapie des „small for size“ Syndroms nach Leberresektion vorteilhaft sein.

2. Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war zum einen die Untersuchung makrohämodynamischer Parameter während der hepatic arterial buffer response (HABR) mittels eines speziell hierfür etablierten Kleintiermodells, insbesondere die Analyse von Blutflüssen und Blutdrücken, mit besonderer Berücksichtigung der Höhe und Dynamik dieses Regulationsmechanismus. Die Untersuchung wurde an gesunden wie auch an leberteilresezierten Tieren durchgeführt, jeweils unter lokaler intraarterieller Applikation von L-Name, Levosimendan oder Ringerlösung als Kontrolle, um auf folgende Einzelfragen eine Antwort zu finden:

1. Inwieweit kann die HABR eine portalvenöse Blutflussdrosselung bei sham-operierten Tieren sowie im Falle einer Leberteilresektion kompensieren?
2. Kann nach einer ausgedehnten Leberresektion ein portalvenöser Flussanstieg und ein gleichbleibender hepatoarterielle Fluss beobachtet werden, oder stellt sich stattdessen eine „negative“ HABR ein, also eine Verminderung des hepatoarteriellen Flusses?
3. Kann durch Blockade der NO-Synthase eine „negative“ HABR provoziert werden und kann im Umkehrschluss eine NO-Freisetzung die HABR nach einer Leberresektion kompensieren?
4. Kann die hepatische Zirkulation durch den Inodilator Levosimendan und damit durch die Aktivierung ATP-gesteuerter Kalium-Kanäle beeinflusst werden?
5. Kann eine erhöhte NO-Synthase Aktivität nach Leberresektion im Lebergewebe nachgewiesen werden?

3. Material und Methoden

3.1. Versuchstiere

Insgesamt 27 Sprague-Dawley Ratten beiderlei Geschlechts wurden als Versuchstiere verwendet. Diese stammten aus der Eigenzucht des Instituts für Klinisch-Experimentelle Chirurgie der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar (Direktor: Prof. Dr. med. M. D. Menger, Tierschutzbeauftragte: Frau Dr. med. vet. M. Frings).

Die Tiere unterlagen bis zum Versuchsbeginn einem kontinuierlichen Tag-Nacht-Zyklus von je 12 Stunden. Die Ratten wurden in einem vollklimatisierten Tierstall des Instituts für Klinisch-Experimentelle Chirurgie, Universität des Saarlandes, gehalten (Lufttemperatur: 22-24° C, relative Luftfeuchtigkeit: ca. 70%). Während ihrer Haltung wurden den Versuchstieren palettiertes Standardlaborfutter (Altromin, Lage, Deutschland) und Leitungswasser in Nippeltränken ad libitum angeboten. 12 Stunden vor Versuchsbeginn wurde den Tieren das Futter entzogen, während das Trinkwasser bis zu Versuchsbeginn frei zugänglich blieb.

Alle Tierexperimente erfolgten in Übereinstimmung mit dem gültigen Deutschen Tierschutzgesetz und dem *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission of Life Sciences, National Research Council, National Academy Press Washington D.C., 1996). Die Durchführung der Versuche wurde durch die Tierschutzbeauftragte Frau Dr. med. vet. M. Frings überwacht.

3.2. Modell zur Analyse der HABR

3.2.1. Anästhesie und chirurgische Präparation

Nach einer etwa zwölfstündigen Nahrungskarenz wurden 500 bis 550 g schwere Sprague-Dawley Ratten mit 50mg/kg Körpergewicht Pentobarbital (Narcoren, Braun, Melsungen, Deutschland) durch intraperitoneale Injektion mit einer dünnen 1ml Spritze anästhesiert. Entsprechende Dosierungen (10 mg/kg Körpergewicht i.p.) wurden während der Versuche zur Aufrechterhaltung der Narkose nachinjiziert. Fünf Minuten nach dem Beginn der Anästhesie erfolgte die Rasur von Halsregion und Abdomen, um den operativen Zugang zu erleichtern. Anschließend wurden die Tiere in Rückenlage mittels Klebestreifen und Magnetclips auf

einem Operationstisch mit integrierter Heizplatte (Effenberger, Pfaffing/Attel, Deutschland) fixiert. Eine rektale Temperatursonde erlaubte die Kontrolle der Körpertemperatur und deren Konstanthaltung zwischen 36°C und 37°C durch entsprechende Änderung der Temperatur der Heizplatte.

Anschließend wurde eine Tracheotomie durchgeführt, um die Spontanatmung zu erleichtern. Nach dem Setzen eines axialen Hautschnittes kranial des Sternums und Freipräparation des subkutanen Fettgewebes wurde die Speicheldrüse beiseite geschoben, die Trachea wurde vorsichtig heraus luxiert und mit einem Faden angezügelt. Die Trachea wurde im Bereich eines Ligamentum anulare tracheae zwischen zwei Knorpelspangen so weit inzidiert, dass eine Trachealkanüle hineinpasste. Diese in der Trachea liegende Kanüle diente zur Erleichterung der Spontanatmung, zum wiederholten Absaugen der Luftwege bei Verschleimung und zur Minimierung der Totraumventilation.

Danach erfolgte die Darstellung der A. carotis communis dextra durch Freipräparation und das Anzügeln des Gefäßes mit zwei Fäden Vicryl 4-0 (Ethicon, Norderstedt, Hamburg, Deutschland). Die Arterie wurde querinzidiert und ein angeschrägter, mit Ringerlösung (Braun, Melsungen, Deutschland) vorgespülter Polyethylenkatheter (PE-50, 800/110/200, Innendurchmesser: 0,58mm, Außendurchmesser: 0,96 mm; Portex Ltd., Hythe, UK) wurde in das Gefäßlumen eingeführt und mit den vorgelegten Fäden fixiert. Der arterielle Katheter wurde über einen Dreiwegehahn an einen Perfusor (Injectomat S; Fresenius, Schweinfurt, Deutschland) angeschlossen. Auf diese Weise war es möglich, den arteriellen Blutdruck und die Herzfrequenz über den Karotiskatheter kontinuierlich zu kontrollieren und aufzuzeichnen. Außerdem erfolgten über diesen Zugang auch Blutabnahmen für Blutbild und arterielle Blutgasanalyse. Die kontinuierliche Spülung mit einer Ringerlösung (1ml/h; Braun, Melsungen, Deutschland) verhinderte eine thrombenbedingte Okklusion des Katheters und diente zum Flüssigkeitsausgleich bei einer Operationsdauer von mehreren Stunden.

Nach medianer Laparotomie mit jeweils J-förmiger Schnitterweiterung beidseits erfolgte die Darstellung der abdominalen Strukturen. Zunächst erfolgte die Mobilisation der Leber durch Resektion des Omentum minus. Die entsprechenden ligamentären Strukturen (Ligg. falciforme hepatis, teres hepatis, triangularia dextra und sinistra) wurden zusammen mit Ästen der Aa. gastricae breves durchtrennt. Das gesamte Intestinum wurde nach rechts eventeriert, mit einer kleinen angefeuchteten Mullkompressen abgedeckt und regelmäßig mit warmer Kochsalzlösung gespült, um eine Austrocknung und Abkühlung der Baueingeweide zu vermeiden.

Zur Analyse des Leberblutflusses erfolgte die mikrochirurgische Präparation der Stromgebiete von Truncus coeliacus und A. mesenterica superior in Anlehnung an die von Lauth (1985) beschriebene Methode (*Abbildung 12*).

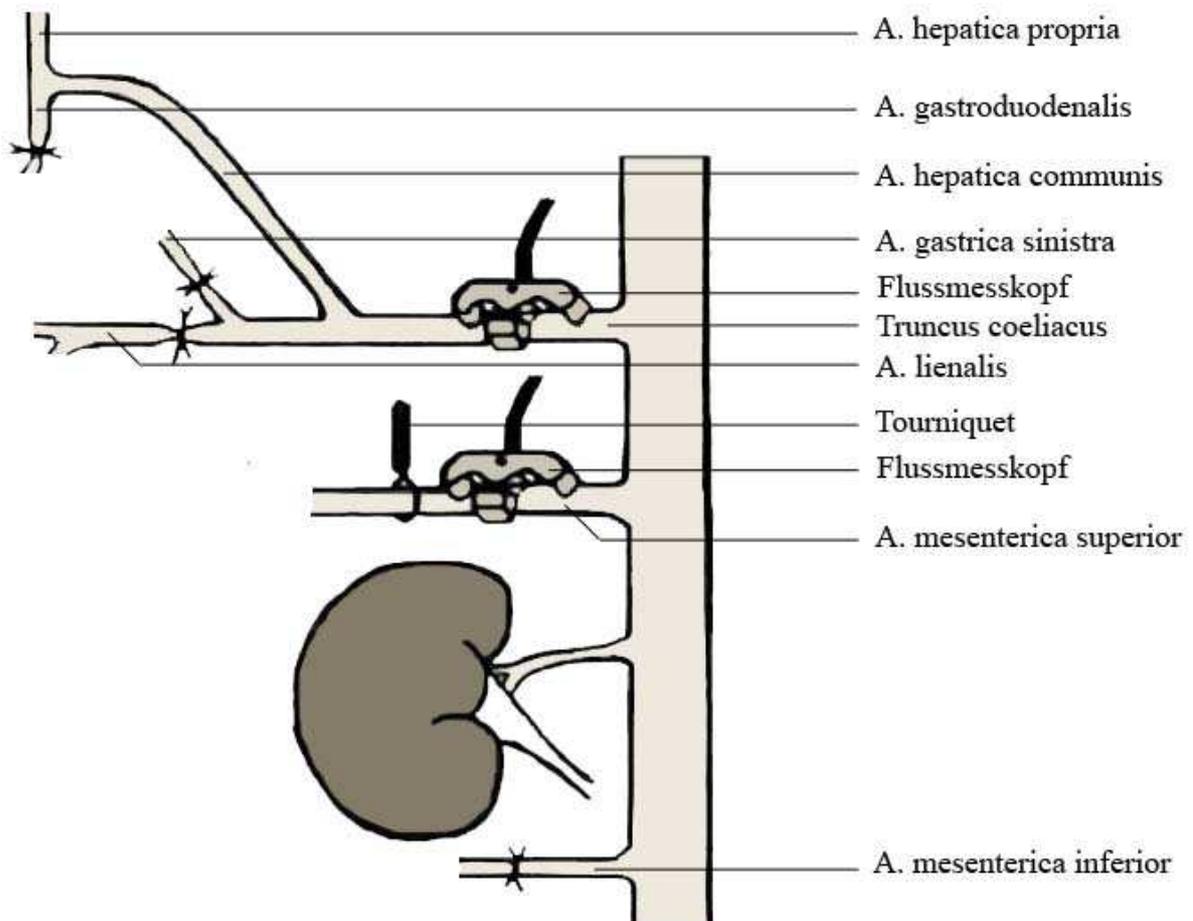


Abbildung 12: Schematische Darstellung der intraabdominellen Präparation zur Analyse der HADR: Ligaturen der A. gastroduodenalis, der A. gastrica sinistra, der A. lienalis und der A. mesenterica inferior. Platzierung von Tourniquets zur Flussreduktion und von Ultraschall-Flussmessköpfen um den Truncus coeliacus (zur Messung des hepatoarteriellen Blutflusses) und um die A. mesenterica superior (zur Messung des portalvenösen Blutflusses).

Sämtliche Kollateralen des Truncus coeliacus (A. gastroduodenalis, A. und V. gastrica sinistra, A. lienalis) sowie die Kollateralgefäße der A. mesenterica superior, nämlich die A. mesenterica inferior und Anastomosen zu den Aa. rectales, wurden durch darznahe Ligatur der Blutgefäße mittels Durchstechungsligaturen der Stärke Prolene 7-0 ligiert (Prolene 7-0, Ethicon, Norderstedt, Hamburg, Deutschland). Auf diese Weise entsprach der Blutfluss des

Truncus coeliacus dem der A. hepatica propria und der Blutfluss der A. mesenterica superior dem der Vena portae. Truncus coeliacus und A. mesenterica superior wurden anschließend an Ihren Abgängen aus der Aorta über eine Strecke von wenigen Millimetern freipräpariert und die A. mesenterica superior wurde mit einem geflochtenen Faden (Ethibond 2-0; Ethicon, Norderstedt, Hamburg, Deutschland) angeschlungen, um zu einem späteren Zeitpunkt die Flussreduktion mittels eines Mikromanipulator-kontrollierten Tourniquets vornehmen zu können.

3.2.2. Blutflussmessung mittels Transit Time Flow Measurement-Methode

Die Transit Time Flow Measurement-Methode (Laufzeitdifferenzverfahren) erlaubt die intraoperative Messung sowohl des Tr. coeliacus als auch des A. mes. superior Flusses in Milliliter pro Minute. Die dabei verwendeten Flussmessköpfe sind piezoelektrische Wandler, die aus zwei Ultraschall-Transduktoren und einem akustischen Reflektor bestehen (*Abbildung 13*).

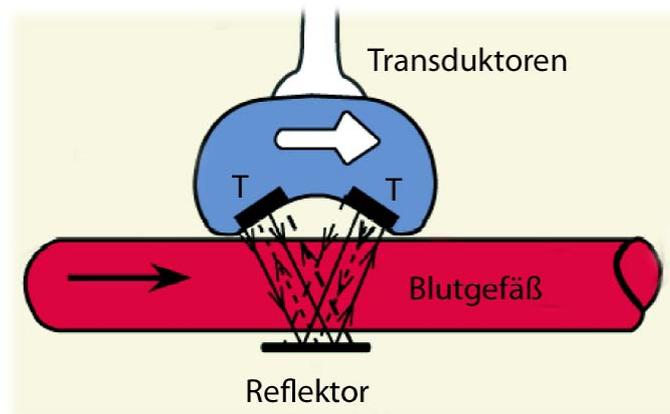


Abbildung 13: Chema der Blutflussmessung mittels Ultra-schalllaufzeitverfahren (Transit Time Flow Measurement) (nach: Transonic Systems Inc, 2008).

Die Transduktoren sind auf der gegenüberliegenden Seite des Reflektors positioniert, wobei das zu untersuchende Gefäß von den Transduktoren und dem Reflektor umschlossen wird. Abwechselnd werden über die Transduktoren Ultraschallsignale diagonal zur Fließrichtung gesendet und empfangen. Dabei ist die Laufzeit des Signals mit der Strömung kürzer als gegen die Strömung. Die Laufzeitdifferenz ist direkt proportional zur Fließgeschwindigkeit entlang des akustischen Pfades. Aus der Differenz der Laufzeiten wird die

Fließgeschwindigkeit durch den Flowmeter ermittelt (Bohl, 2008). Die Größe der verwendeten Flussmessköpfe wurde entsprechend dem Kaliber der Gefäße gewählt. Ein Ultraschall-Flussmesskopf (0.5V, Transonic Systems, Ithaka, NY, USA) wurde um den Truncus coeliacus aortennah an der präparierten Stelle platziert, ein weiterer Flussmesskopf (1.5R, Transonic Systems, Ithaka, NY, USA) wurde aortennah um die A. mesenterica superior neben das vorgelegte Tourniquet angebracht (*Abbildung 12, Abbildung 14*). Die Kontaktflächen der Flussmessköpfe wurden mit einem Ultraschallkontaktgel bedeckt, um die Leitfähigkeit zu verbessern, und mit dem Flussmessgerät Flow Meter T206 (Transit Time Animal Research Flowmeter T206, Transonic Systems, Ithaka, NY, USA) konnektiert. Die hepatoarteriellen und portalvenösen Blutflussdaten wurden dann auf ein computerisiertes Daten-Aquisitionssystem (Dasylab 2.0, measX GmbH, Mönchengladbach, Deutschland) übertragen und aufgezeichnet.

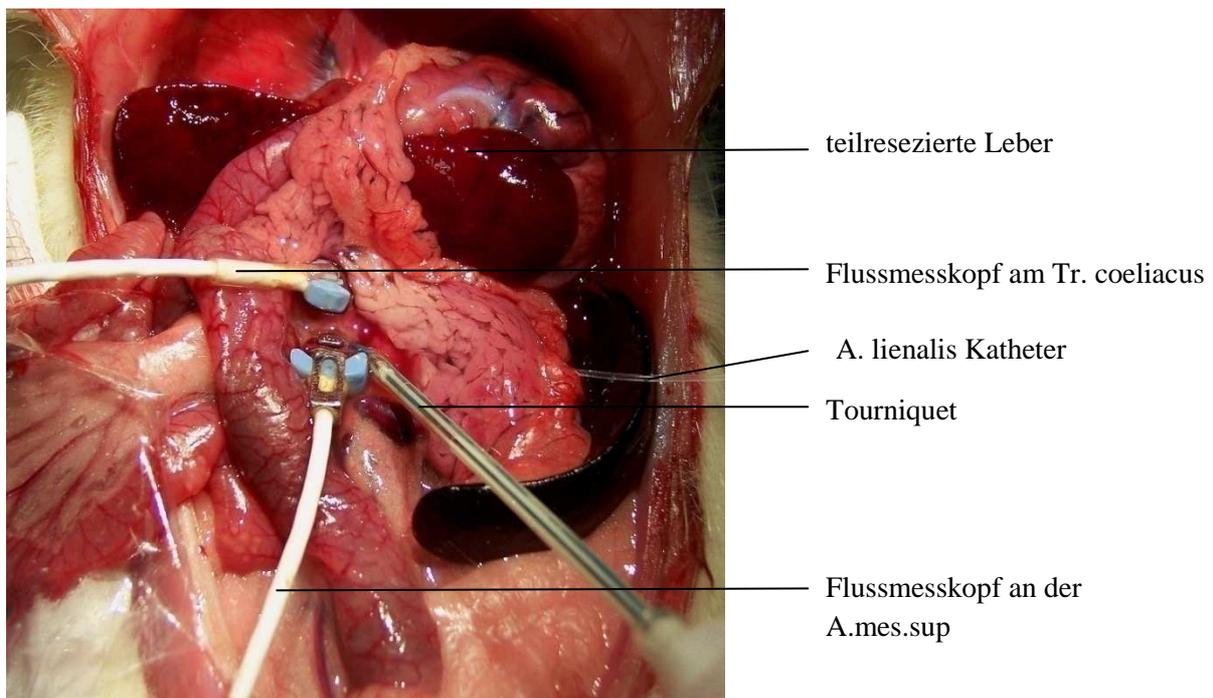


Abbildung 14: Situs der Ratte nach mikroskopischer Präparation, Leberteilresektion, Katheterisierung der A. lienalis und Platzierung der Ultraschall-Flussmessköpfe um Truncus coeliacus und A. mesenterica superior sowie des Tourniquets um A. mesenterica superior.

3.2.3. Applikation der Medikamente

Am Ende der chirurgischen Präparation erfolgte die Katheterisierung der A. lienalis. Hierzu wurde die A. lienalis freipräpariert, mittels eines Polyethylenkatheters (PE-10, 800/110/100; Innendurchmesser 0,28 mm, Außendurchmesser 0,61 mm, Portex Ltd., Hythe, UK) katheterisiert und mit vorgelegten Ligaturen fixiert (*Abbildung 14*). Dies ermöglichte die Applikation des NO-Synthase Hemmers N(G)-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-Name) und des Inodilators Levosimendan zur Beeinflussung der Leberperfusion und der HABR oder zur Infusion von Ringerlösung (1 ml/h; Braun, Melsungen, Deutschland) bei den Kontrolltieren direkt in die A. hepatica. Der A. lienalis Katheter wurde ebenfalls über einen Dreiwegehahn an einen Perfusor angeschlossen (Injectomat S; Fresenius, Schweinfurt, Deutschland) und kontinuierlich mittels Ringerlösung (1 ml/h; Braun, Melsungen, Deutschland) gespült, um eine Thrombenbildung am Katheter zu vermeiden. Die Medikamentenapplikation erfolgte ebenfalls über den Dreiwegehahn, wobei L-Name als ein Bolus von 10 mg/kg Körpergewicht verabreicht wurde und Levosimendan sowohl als Initialdosis von 24 µg/kg als auch durch kontinuierliche intrahepatische Infusion von 0,1 µg/kg/min mittels Perfusor appliziert wurde.

3.3. Versuchsgruppen

Die Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, A und B, wobei innerhalb einer Gruppe die Wirkung eines der beiden Medikamente, L-Name oder Levosimendan, auf die Leberperfusion bei physiologischen Bedingungen und bei teilresezierter Leber untersucht wurde. Jede Gruppe wurde noch einmal in zwei Untergruppen aufgeteilt, A-I und A-II, B-I und B-II, wobei bei der einen Hälfte die Messungen ohne vorheriger Leberteilesektion und bei der anderen eben mit vorheriger Leberresektion vorgenommen wurden. Bei jedem Tier wurde zwei Mal eine Flussmessung durchgeführt, wobei die erste ohne Medikament und die zweite Messung nach vorheriger Medikamentenapplikation vorgenommen wurde. Schließlich wurden die Tiere am Versuchsende mit einer Überdosis Pentobarbital getötet. *Tabelle 1* gibt eine Übersicht über die Versuchsgruppen.

3.3.1. Flussmessung bei sham-operierten Tieren

Die Versuchsreihe ohne Leberteilresektion (A-I + B-I) (*Tabelle 1*) umfasste 13 Tiere. Kontrolltiere ohne Leberresektion dienten zur Demonstration physiologischer Bedingungen, sie werden im Folgenden als sham-operierte Tiere bezeichnet. Bei diesen Tieren erfolgte die mikrochirurgische Präparation direkt im Anschluss an die Laparotomie. Nach Platzierung der Flussmesssonden und Katheterisierung der A. lienalis erfolgte die erste Messung unter physiologischen Bedingungen (A-I: 1. Messung in der L-Name Gruppe und B-I: 1. Messung in der Levosimendan Gruppe), d.h. ohne Leberresektion und ohne Medikamentenapplikation. Der A. lienalis Katheter wurde dabei mit 2ml/min Ringerlösung gespült. Im Anschluss erfolgte nach einer 15 Minütigen Regenerationsphase die intrahepatische Applikation des jeweiligen Medikaments, L-Name oder Levosimendan. Die zweite Messung wurde nach Einstellung eines stabilen Pfortaderflusses vorgenommen (A-I: 2. Messung in der L-Name Gruppe und B-I: 2. Messung in der Levosimendan Gruppe).

3.3.2. Flussmessung nach Leberteilresektion

Die Versuchsreihe mit Leberresektion (A-II + B-II) umfasste 14 Tiere. Die Leberresektion erfolgte als 70% Hepatektomie nach dem Modell von Higgins und Anderson (Higgins, 1931). Hierbei wurden nach der Tracheotomie, Anlage des Carotis-Katheters, medianer Laparotomie und Platzierung des A. lienalis Katheters die Aufhängebänder der Leber durchtrennt, so dass außer dem linken Leberlappen auch die darüber liegenden kleineren oberen rechten und linken Lappen mit einer Ligatur (Ethibond 2-0; Ethicon, Norderstedt, Hamburg, Deutschland) versorgt und mit einem Skalpell über der Ligatur abgetrennt werden konnten. Dieses standardisierte Vorgehen führte zu einer 66-70% Reduktion der Lebermasse bei minimalem chirurgischen Trauma und minimalem Blutverlust. Der Teil der Versuchstiere, der vor der Medikamentenapplikation einer Leberresektion unterzogen wurde, wurde direkt im Anschluss an die Leberresektion mikrochirurgisch präpariert. Es erfolgte eine entsprechende Analyse der Makrohamödyamik wobei die erste Messung wiederum ohne Medikamentenapplikation vorgenommen wurde (A-II: 1. Messung und B-II: 1. Messung) und die zweite Messung nach vorheriger i.a. Applikation von L-Name (A-II: 2. Messung) bzw. Levosimendan (B-II: 2. Messung) stattfand.

3.4. Untersuchungstechniken

3.4.1. Makrohämodynamik

Zur Analyse makrohämodynamischer Parameter zählten die Messungen des mittleren arteriellen Blutdruckes sowie die Erfassung des hepatoarteriellen und portalvenösen Blutflusses.

3.4.1.1. Mittlerer systemischer arterieller Blutdruck

Der arterielle Katheter war über einen Druckaufnehmer (Statham Typ P23 ID; Gould Inc., Oxnard, California, USA) mit einem analogen Messgerät (Servomed, Hellige, Freiburg/Breisgau) und einem Flachbrettschreiber (Linear Corder Mark VII, Watanabe, Herrsching/Ammersee) verbunden. Es erfolgte hierbei die kontinuierliche Registrierung des mittleren systemischen arteriellen Blutdrucks sowie die Ermittlung der Herzfrequenz anhand der Blutdruckamplituden (Schreibergeschwindigkeit 5 mm/min). Zusätzlich erfolgte die digitale Registrierung des arteriellen Blutdrucks über einen Analog-Digital- (A/D-) Wandler und Übertragung an eine computergestützte Datenaquisitions-Software (Dasylab 2.0, measX GmbH, Mönchengladbach, Deutschland), wobei die Frequenz der Datenerfassung (Samplingfrequenz) 20Hz betrug. Die Daten wurden online in ein softwarespezifisches Datenformat aufgezeichnet und sekundär in ein Tabellenkalkulationsprogramm (Excel 7.0, Microsoft GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) übertragen, um die weitere Datenverarbeitung zu ermöglichen.

3.4.1.2. Portalvenöser und hepatoarterieller Blutfluss

Die um die A. mesenterica superior und den Truncus coeliacus platzierten Flussmessköpfe waren mit einem entsprechenden analogen Flussmessgerät (T206 Transit Time Animal Research Flowmeter, Transonic Systems, Ithaca, NY, USA) verbunden, welche die jeweiligen Blutflüsse getrennt als Digital- und Analogskala anzeigte. Die Daten der Blutflüsse wurden ebenfalls über den A/D-Wandler an die Datenaquisitionssoftware (Dasylab 2.0, measX GmbH, Mönchengladbach, Deutschland) übertragen und zusammen mit den Blutdruckdaten auf einer gemeinsamen Zeitachse registriert.

Vor Beginn der Experimente erfolgte eine Kalibrierung der Flussmesssonden. Dabei wurden die Flussmessköpfe vor jedem einzelnen Experiment einige Zeit in stehende Natriumchloridlösung getaucht und auf Null kalibriert.

Nach Erfassung der Ausgangswerte (Basalbedingungen) erfolgte die Reduktion des Blutflusses in der A. mesenterica superior mittels eines Mikromanipulator-kontrollierten Tourniquets. Der Blutfluss in A. mesenterica superior, repräsentativ für den Pfortaderfluss, wurde so schrittweise von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0% reduziert. Jeder Schritt der Blutflussreduktion wurde für ca. 5 Minuten beibehalten, um stabile Bedingungen für die Aufzeichnung der Flüsse in der V. portae und der A. hepatica zu gewährleisten. Die konsekutiven Flussreduktionen von 100% auf 0% wurden jeweils 2 Mal pro Versuchstier durchgeführt. Zwischen den einzelnen Messzyklen wurde die Drosselung für 15 Minuten komplett aufgehoben, so dass jeweils wieder physiologische Ausgangsbedingungen erreicht werden konnten. Nach der intrahepatischen Medikamenteninjektion wurden ebenfalls stabile Flussbedingungen abgewartet, bevor mit der Messung begonnen wurde.

Bei allen Versuchstieren erfolgte zusätzlich zur Berechnung des absoluten portalvenösen und hepatoarteriellen Blutflusses die Bestimmung der Flüsse pro 100g Lebergewicht, so dass besonders bei den teilresezierten Tieren die relativen Blutflüsse in der verbliebenen Restleber nach Resektion und während der folgenden Regenerationsphase mit den Werten der nicht-resezierten Leber vergleichbar waren.

3.4.2. Histologie

Gewebeproben wurden jeweils von der gesunden oder von der Restleber nach Leberteileresektion gesammelt, für zwei bis drei Tage bei 4°C in Formalin 4% (Carl Roth GmbH & Co. KG) fixiert und schließlich in Paraffin (Granopent[®] „P“, Paraffin in Plättchen, Carl Roth GmbH & Co. KG) eingebettet. Entwässerte, in Paraffin eingebettete, 6 µm große Gewebeproben wurden auf Objektträgern (Objektträger, ca. 76x26mm, Menzel GmbH & Co. KG, Braunschweig, Deutschland) fixiert, entparaffiniert und anschließend für die Routinehistologie gemäß Standardverfahren mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt. Die Auswertung erfolgte an einem Olympus BX 60-Lichtmikroskop (Olympus Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland) mit einer angeschlossenen Digitalkamera (Zeiss AxioCam HRc; Carl Zeiss Jena GmbH). Es wurde eine semiquantitative Analyse der zytoplasmatischen Grobscholligkeit, Zellkerndeformation und Vakuolisierung vorgenommen. Hierfür kamen 15 High Power Fields (HPF) pro Leberschnitt zur Auswertung, in welchen die oben genannten Parameter in Grade von 0 bis 3 nach folgender Einteilung eingestuft wurden:

- Grad 0 = keine (0% der Hepatozyten weisen das Merkmal auf)

- Grad 1 = leicht (< 30% der Hepatozyten weisen das Merkmal auf)
- Grad 2 = mäßig (40-70% der Hepatozyten weisen das Merkmal auf)
- Grad 3 = schwer (> 70% der Hepatozyten weisen das Merkmal auf)

Die Ergebnisse wurden in Prozent angegeben.

3.4.3. Immunhistochemie (PCNA)

Als Immunhistochemische Färbung wurde die PCNA-Färbung (Proliferating cell nuclear antigen) angefertigt. Diese zeigt die proliferative Aktivität der Hepatozyten. Sie wurde mit Hilfe der indirekten Immunperoxidasetechnik durchgeführt. Hierfür wurden die entparaffinierten Schnitte zunächst mit dreiprozentigem H₂O₂ inkubiert, um endogene Peroxidasen zu blockieren, und anschließend mit zweiprozentigem Ziegennormalserum inkubiert, um unspezifische Bindungsstellen zu blockieren. Als primärer Antikörper wurde ein monoklonaler Maus-anti-PCNA-Antikörper (PC10; 1:50; Dako Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland) verwendet. Als sekundärer Antikörper diente ein anti-mouse-Ig-Antikörper (Link, LSAB-HRP, Dako-Cytomotion). 3,3-Diaminobenzidin (Dako, Deutschland GmbH) wurde als Chromogen zum Nachweis des Antigen-Antikörper-Komplexes über eine Farbreaktion gewählt. Zur Kontrastfärbung der Proben wurde Hämalaun (Hämatoxylin) verwendet. Für die Datenerhebung wurden in jeweils 15 HPF pro Schnitt die PCNA-positiven Zellen semiquantitativ ausgewertet und anhand eines Index nach folgender Einteilung eingestuft:

- 0 Punkte = 0% PCNA positive Nuklei
- 1 Punkt = 0-10% PCNA positive Nuklei
- 2 Punkte = 10-30% PCNA positive Nuklei
- 3 Punkte = 30-50% PCNA positive Nuklei
- 4 Punkte = >50% PCNA positive Nuklei

Die Ergebnisse wurden in Prozent angegeben.

3.4.4. Western Blot Analyse

Des Weiteren wurden die Proteinexpressionen sowohl der induzierbaren (iNOS) als auch der endothelialen NO-Synthase (eNOS) im Lebergewebe durch Western-Blot bestimmt.

Um das Gesamtprotein zu extrahieren und eine Western Blot Analyse der endothelialen NO-Synthase (eNOS) und induzierbaren NO-Synthase (iNOS) durchführen zu können, wurde Lebergewebe in Lysispuffer (10 mM Tris, pH 7.5, 10 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 0.5% Triton X-100, 0.02 mM NaN₃, 0.2 mM PMSF, und Protease Inhibitor Cocktail 1:100 vol/vol; Sigma, Taufkirchen, Deutschland) homogenisiert, für 30 Minuten auf Eis inkubiert und bei 16000 g für 30 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde als eine reine Proteinextrakt-Fraktion abpipetiert. Proteinkonzentrationen wurden mit der Proteinbestimmung nach Lowry durchgeführt mit bovinem Serumalbumin als Standard. Fünfzehn Mikrogramm Protein wurden pro Linie auf ein 10% SDS-PAGE Gel diskontinuierlich aufgebracht und auf Polyvinylidindifluorid Membranen (0.2 µm; Bio-Rad, Munich, Germany) übertragen.

Nach der Blockierung unspezifischer Bindungsstellen, wurden die Membranen für zwei Stunden mit einem polyklonalen anti-Maus eNOS Antikörper (1:500; BD Transduction Laboratories, Heidelberg, Germany) und mit einem polyklonalen anti-Maus iNOS Antikörper (1:100; Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Germany) inkubiert, gefolgt von einem zweiten Peroxidase-konjugierten Esel anti-Kaninchen IgG-Antikörper (1.5 h, 1:5,000; Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg, Germany).

Proteinexpressionen wurden mittels Luminol verstärkter Chemolumineszenz (ECL; Amersham) und durch Exponierung der Membranen gegenüber einem Blaulicht-sensitiven Autoradiografierfilm (Hyperfilm ECL; Amersham) visualisiert. Signale wurden densitometrisch eingeordnet (Gel Doc, Quantity One software; Bio-Rad) und auf β -Actin Signale (mouse monoclonal anti- β -actin; Sigma) genormt, um ungleiche Ladungen zu korrigieren. β -Actin diente so als interner Standard zur Kontrolle für den Einsatz gleichmäßiger DNA-Mengen in den untersuchten Proben.

3.5. Experimentelles Protokoll

Nach der mikrochirurgischen Präparation und Sondenplatzierung erfolgte bei allen Versuchstieren eine Stabilisierungsphase von 15 Minuten. Danach erfolgten makrohämodynamische Untersuchungen zur Funktionsweise der HABR, in der ersten Messung ohne vorheriger Medikamentenapplikation und nach einer 15 minütigen Stabilisierungsphase erfolgte die zweite Messung mit vorheriger Medikamentengabe. *Tabelle I* zeigt eine Übersicht über die Versuchsgruppen.

	sham-operierte Tiere	leberteilresezierte Tiere	Summe
A: L-Name			
ohne Medikament:	A-I: 1. Messung n=7	A-II: 1. Messung n=6	A n=13
mit Medikament:	A-I: 2. Messung	A-II: 2. Messung	
B: Levosimendan			
ohne Medikament:	B-I: 1. Messung n=6	B-II: 1. Messung n=8	B n=14
mit Medikament:	B-I: 2. Messung	B-II: 2. Messung	
Summe	A-I + B-I = ohne LR n=13	A-II + B-II = mit LR n=14	gesamt n=27

Table 1: Übersicht über die Versuchsgruppen

Alle 27 Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt:

3.5.1. Versuchsgruppe A: L-Name

Die Versuchstiere in diesem Studienabschnitt (n=13) dienten der Untersuchung der Makrohämodynamik der HABR bei gesunder und teilresezierter Leber unter L-Name-Applikation.

Die hierbei verwendeten 13 Tiere wurden in 2 Untergruppen eingeteilt:

- Gruppe A-I (n=7): HABR bei gesunder Leber
 - 1. Messung: ohne L-Name-Applikation
Stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0%
 - 2. Messung: mit vorheriger L-Name-Applikation
Stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0%
- Gruppe A-II (n=6): HABR bei teilresezierter Leber

- 1. Messung: ohne L-Name-Applikation
Stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0%
- 2. Messung: mit vorheriger L-Name-Applikation
Stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0%

3.5.2. Versuchsgruppe B: Levosimendan

Die zweite Versuchsgruppe (n=14) diente der portalen und hepatoarteriellen Flussmessung unter physiologischen Bedingungen und nach Leberteilresektion nach Applikation des Calcium-Sensitizer Levosimendan.

Die hierbei verwendeten 14 Tiere wurden in 2 Untergruppen eingeteilt:

- Gruppe B-I (n=6): HABR bei gesunder Leber
 - 1. Messung: ohne Levosimendan-Applikation
Stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0%
 - 2. Messung: mit vorheriger Levosimendan-Applikation
Stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0%

- Gruppe B-II (n=8): HABR bei teilresezierter Leber
 - 1. Messung: ohne Levosimendan-Applikation
Stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0%
 - 2. Messung: mit vorheriger Levosimendan-Applikation
Stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0%

In beiden Gruppen wurden folgende Parameter analysiert:

- 1) mittlerer arterieller Blutdruck [mmHg]
- 2) portalvenöser und hepatoarterieller Blutfluss [ml/min]

3.6. Statistik

Für die statistische Analyse und die grafische Darstellung kamen die Programme SigmaStat 3.0 und SigmaPlot 10.0 zur Anwendung (SPSS Inc, Chicago, USA).

Alle Daten sind als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes angegeben (MW \pm SEM). Für den Vergleich der Versuchsgruppen untereinander wurde im Falle normalverteilter Werte und Varianzgleichheit der Student's t-Test für unverbundene Stichproben verwendet, ansonsten im Falle der fehlenden Normalverteilung wurde ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Für Vergleiche während des Zeitverlaufs innerhalb einer Versuchsgruppe wurde ein one-way-ANOVA für wiederholte Messungen mit einem Student-Newman-Keuls-Test als post-hoc-Test durchgeführt; im Falle fehlender Normalverteilung oder fehlender Varianzgleichheit erfolgte ein ANOVA-Rangsummentest für wiederholte Messungen. Vergleiche zwischen mehreren Versuchsgruppen erfolgten ebenfalls mittels one-way-ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test bzw. im Falle fehlender Normalverteilung oder fehlender Varianzgleichheit mittels ANOVA-Rangsummentest. Lineare Zusammenhänge wurden mittels Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Bravais-Pearson bestimmt. Unterschiede wurden ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ als signifikant betrachtet.

4. Ergebnisse

4.1. Mittlerer systemisch arterieller Blutdruck

Ohne Medikamentenapplikation: sham-operierte vs. leberteilresezierte Tiere:

Sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren war der mittlere systemisch arterielle Blutdruck unter Ausgangsbedingungen ähnlich und lag bei ca. 102 mmHg (*Abbildung 15*). Nach Drosselung des portalvenösen Flusses zeigte der arterielle Blutdruck bei den Kontrolltieren ohne Medikamentenapplikation und ohne Leberresektion eine Zunahme von $101,41 \pm 5,22$ mmHg bei 100% auf $123,32 \pm 6,70$ mmHg bei 0% portalvenösen Flusses. Auch bei den teilresezierten Tieren verhielt sich der systemische arterielle Blutdruck ähnlich. Hier nahm er von $103,25 \pm 3,66$ mmHg bei 100% auf $121,42 \pm 6,10$ mmHg bei 0% zu. Die relative Druckzunahme war in beiden Gruppen ähnlich (ca. 120%). Signifikanzen im Druckanstieg ergaben sich bei beiden Gruppen bei nur 20% Reduktion des portalvenösen Flusses verglichen mit Basiswerten.

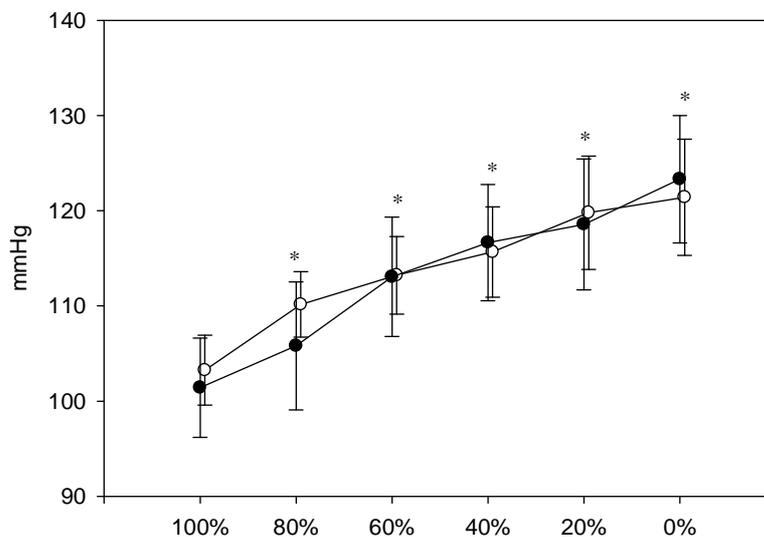


Abbildung 15: Vergleich des mittleren arteriellen Blutdruckes während schrittweiser portalvenöser Drosselung bei Kontrolltieren ohne Medikamentenapplikation bei sham-operierten Tieren (●) und nach Leberteilresektion (○). MW ± SEM. * $p < 0,001$ vs. 100%.

Nach intrahepatischer L-Name-Applikation: sham-operierte vs. leberteilresezierte Tiere:

Bei Drosselung des portalvenösen Druckes fand sich nach L-Name-Applikation sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren eine signifikante Drucksteigerung. *Abbildung 16* zeigt die Änderung des mittleren systemisch arteriellen Blutdruckes in Abhängigkeit von der Medikamentenapplikation bei sham-operierten (A) und leberteilresezierten Tieren (B).

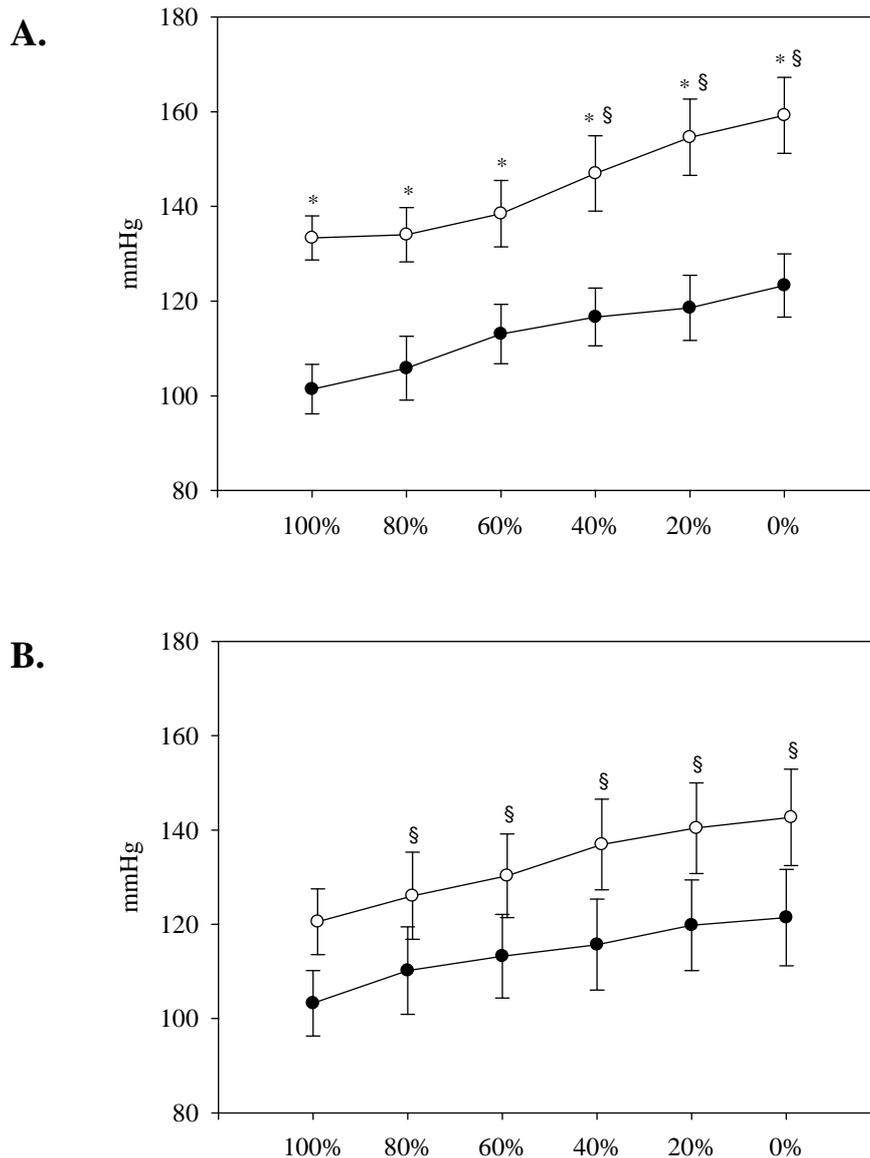


Abbildung 16: Änderung des mittleren systemisch arteriellen Blutdruckes bei Drosselung des portalvenösen Druckes im Vergleich: L-Name-Applikation (○) vs. ohne Medikamentengabe (●) bei sham-operierten (A), und leberteilresezierten Tieren (B). MW ± SEM. * $p < 0,001$ vs. Tiere ohne L-Name, § $p < 0,05$ vs. 100% portalvenösem Fluss.

Der Blutdruck war bei den mit L-Name behandelten sham-operierten Tieren insgesamt signifikant höher als bei den Tieren ohne Medikamentenapplikation, wobei auf jeder Stufe der Drosselung ein Blutdruckanstieg von ca. 30 mmHg zu verzeichnen war (*Abbildung 16 A*). Bei leberteilresezierten Tieren bewirkte die Applikation von L-Name nur einen angedeuteten, nicht signifikanten Blutdruckanstieg (*Abbildung 16 B*).

Vergleicht man alle Tiere, denen L-Name appliziert wurde, konnte kein signifikanter Unterschied im systemisch arteriellen Blutdruck zwischen sham-operierten und leberteilresezierten Tieren festgestellt werden (*Abbildung 17*).

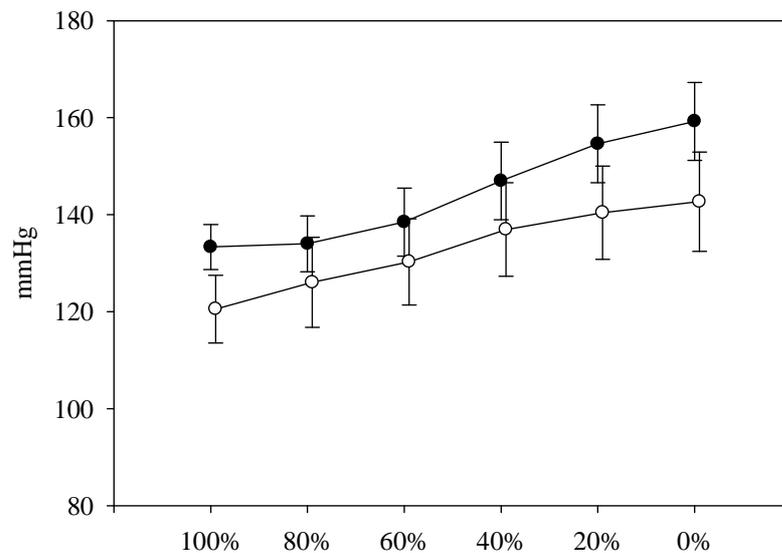


Abbildung 17: Änderung des mittleren systemisch arteriellen Blutdruckes bei Drosselung des portalvenösen Druckes unter L-Name Applikation im Vergleich: sham-operierte Tiere (●) vs. leberteilresezierte Tiere (○). MW \pm SEM

Nach intrahepatischer Levosimendan-Applikation: sham-operierte vs. leberteilresezierte Tiere:

Zur Darstellung der systemisch arteriellen Wirkung Levosimendans, wurden sham-operierte (*Abbildung 18 A*) und leberteilresezierte Tiere (*Abbildung 18 B*) vor und nach Levosimendan-Applikation gegenübergestellt.

Sowohl bei sham-operierten Tieren als auch nach Leberteilresektion konnte unter Levosimendan bei portalvenöser Flussdrosselung ein Anstieg des systemisch arteriellen Blutdruckes beobachtet werden (*Abbildung 18*).

Die Levosimendan-Applikation zeigte bei sham-operierten Tieren keine wesentlichen Veränderungen des Blutdruckes. Bei teilresezierten Tieren konnte man jedoch eine

signifikante Abnahme des mittleren systemisch arteriellen Blutdruckes um ca. 25 mmHg nach Levosimendan-Gabe beobachten (Abbildung 18 B).

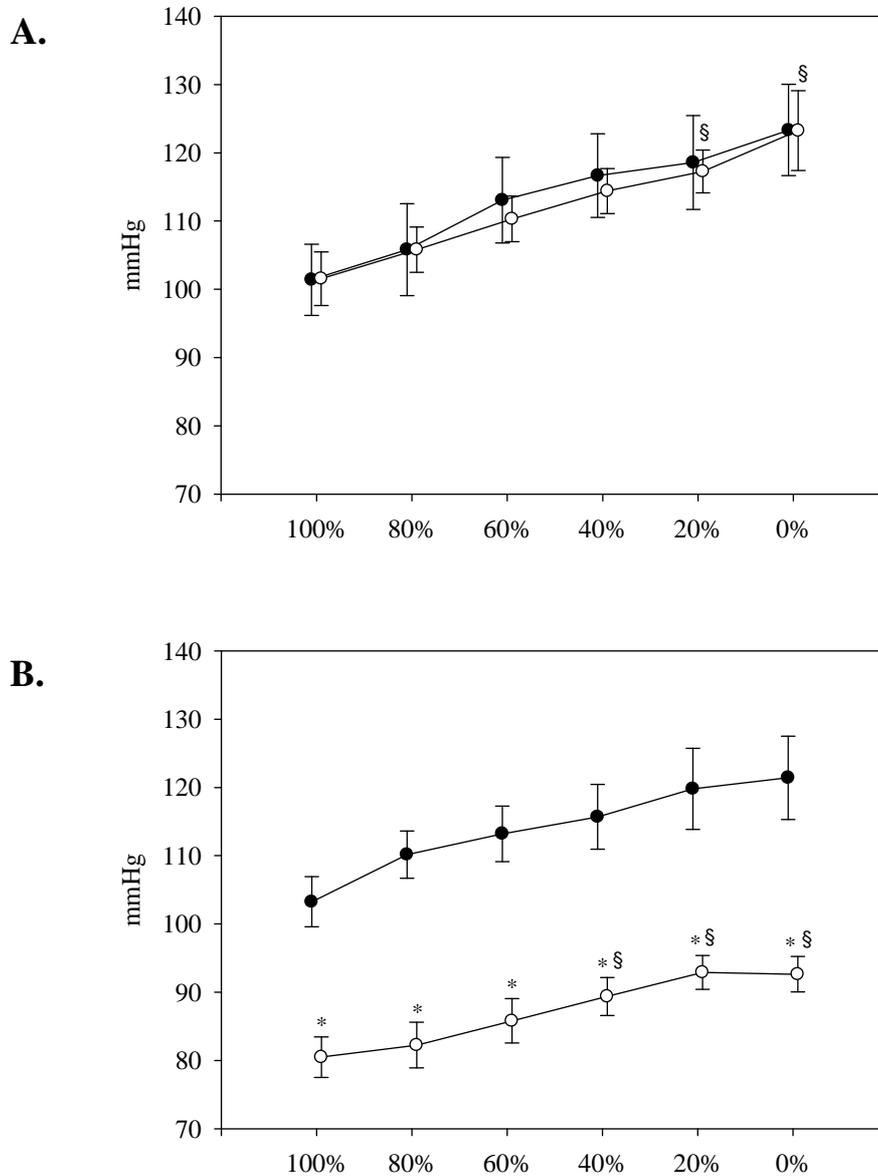


Abbildung 18: Mittlerer systemisch arterieller Blutdruck bei sham-operierten (A.) und bei leberresezierten Tieren (B.) unter Levosimendan-Applikation (○) versus Kontrollen ohne Medikament (●). MW ± SEM. * $p < 0,001$ vs. Tiere ohne Levosimendan, § $p < 0,05$ vs. 100% portalvenösem Fluss.

Vergleicht man nun den systemisch arteriellen Blutdruck bei sham-operierten Tieren unter Levosimendan-Applikation mit demjenigen nach Leberresektion so fällt ein signifikanter

Blutdruckabfall bei leberteilresezierten Tieren nach Levosimendan-Applikation auf (Abbildung 19).

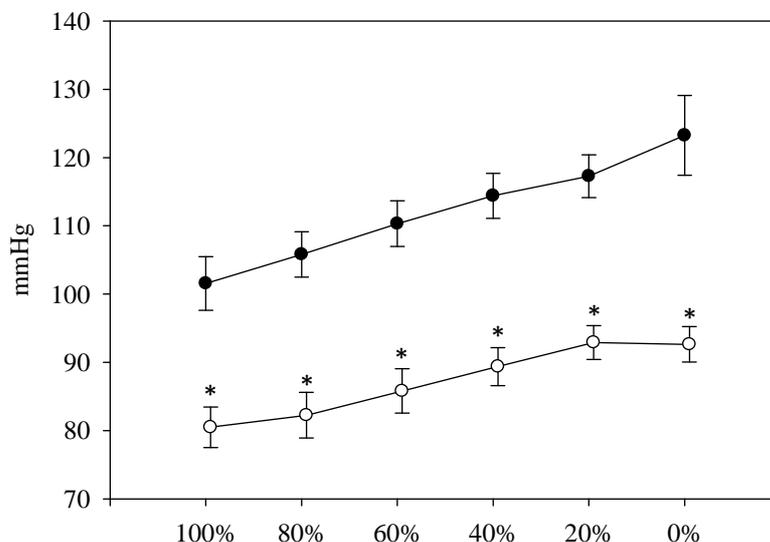


Abbildung 19: Mittlerer systemisch arterieller Blutdruck unter Levosimendan-Applikation bei sham-operierten Tieren (●) vs. leberteilresezierten Tieren (○). MW ± SEM. * $p < 0,001$ vs. sham-operierte Tiere.

4.2. Hämodynamik bei sham-operierten vs. leberteilresezierten Tiere während HABR

4.2.1. Basalwerte ohne Medikamentenapplikation

4.2.1.1. Gesamtleberblutfluss

Um die Perfusion der Leber nach Resektion zu analysieren, wurde zum einen der absolute portalvenöse und hepatoarterielle Blutfluss [ml/min] gemessen und aus deren Summe der Gesamtleberblutfluss bestimmt, zum anderen wurde auch der jeweilige Blutfluss pro Volumen bzw. Gewicht verbliebener Restleber berechnet und als relativer Blutfluss pro 100g Lebergewebe angegeben [ml/min/100g Lebergewicht]. Hierfür wurde jeweils am Ende des Versuchs nach Tötung des Tieres die Leber in toto entnommen und das Leberfeuchtgewicht bestimmt. Eine Leberresektion führte zu einer Reduktion des Lebergewichts um 70%.

Die Ausgangswerte in den Versuchsgruppen zeigten einen signifikanten Unterschied der Leberdurchblutung. Während sham-operierte Kontrolltiere einen durchschnittlichen

Gesamtleberblutfluss von $200,43 \pm 53,22$ ml/min/100g Leber aufwies, war dieser bei leberteilresezierten Tieren auf $351,1 \pm 26,77$ ml/min/100g Leber signifikant erhöht. Insbesondere der portalvenöse Blutfluss zeigte sich bei teilresezierten Tieren signifikant gegenüber Kontrollen erhöht, während der hepatoarterielle Blutfluss bei resezierten Tieren keine wesentliche Änderung gegenüber Kontrollen aufwies (*Tabelle 2*), insbesondere keinen Flussabfall.

Parameter	Blutfluss [ml/min/100g Leber]	
	Kontrollen	Leberresektion
Gesamtleberblutfluss	$200,43 \pm 53,22$	$351,1 \pm 26,77^*$
portalvenöser Blutfluss	$135,16 \pm 31,36$	$282,44 \pm 12,23^*$
hepatoarterieller Blutfluss	$65,27 \pm 22,20$	$68,66 \pm 17,45$

Tabelle 2: Gesamtleberblutfluss, portalvenöser und hepatoarterieller Blutfluss von sham-operierten Tieren (Kontrollen) und von teilresezierten Tieren (Leberresektion). MW \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. Kontrollen.

4.2.1.2. Prozentualer Anteil des portalvenösen und hepatoarteriellen Blutflusses am Gesamtleberblutfluss

Während bei Kontrollen das Verhältnis von portalvenösem zu hepatoarteriellem Fluss bei 70:30 lag, war der Anteil der portalvenösen Perfusion bei teilresezierten Tieren signifikant auf 82% erhöht, so dass der hepatoarterielle Blutfluss hier zu 18% zum Gesamtleberblutfluss beitrug (*Tabelle 3*).

Parameter	Anteil am Gesamtleberblutfluss [%]	
	Kontrollen	Leberresektion
portalvenöser Blutfluss	$70,47 \pm 2,64$	$81,76 \pm 3,84^*$
hepatoarterieller Blutfluss	$29,53 \pm 2,64$	$18,24 \pm 3,84^*$

Tabelle 3: Prozentualer Anteil des portalvenösen und hepatoarteriellen Blutflusses am Gesamtleberblutfluss von sham-operierten Tieren (Kontrollen) und von leberteilresezierten Tieren. MW \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. Kontrollen.

4.2.2. Basalwerte unter Medikamentenapplikation

4.2.2.1. Gesamtleberblutfluss

Im Vergleich zu den Ausgangsbedingungen zeigt sich die Gesamtleberdurchblutung unter Medikamentenapplikation bei beiden Versuchsgruppen leicht erniedrigt, sowohl mit als auch ohne Leberresektion. Der Gesamtblutfluss war bei den resezierten Tieren in allen drei Gruppen (Kontrollen, L-Name und Levosimendan) jeweils signifikant höher ist als bei den nicht resezierten Versuchstieren (*Tabelle 4*).

L-Name	Blutfluss [ml/min/100g Leber]	
	Kontrollen	Leberresektion
Gesamtleberblutfluss	112,77 ± 13,59	229,38 ± 10,52*
portalvenöser Blutfluss	72,76 ± 6,71	211,43 ± 6,12*
hepatoarterieller Blutfluss	40,01 ± 8,52	17,95 ± 7,70*
Levosimendan		
Gesamtleberblutfluss	127,17 ± 11,79	276,41 ± 31,47*
portalvenöser Blutfluss	86,76 ± 7,54	221,29 ± 32,14*
hepatoarterieller Blutfluss	40,42 ± 9,30	55,12 ± 10,61

Tabelle 4: Gesamtleberblutfluss, portalvenöser und hepatoarterieller Blutfluss von sham-operierten Tieren (Kontrollen) und von teilresezierten Tieren (Leberresektion) unter L-Name- oder Levosimendan-Applikation. MW ± SEM. * $p < 0,05$ vs. Kontrollen.

Unter L-Name-Applikation zeigte sich nach Leberresektion eine signifikante Zunahme des Gesamtleberflusses und des portalvenösen Flusses im Vergleich zu den sham-operierten Tieren. Diese Flusszunahme war auch in der Versuchsgruppe unter Ausgangsbedingungen ohne Medikament festgestellt worden (*Tabelle 2*).

Auffällig war die signifikante Abnahme des hepatoarteriellen Flusses unter L-Name-Applikation nach Leberresektion im Vergleich zu sham-operierten Tieren (*Tabelle 4, Abbildung 20 B*) Ohne L-Name-Applikation war keine Änderung des hepatoarteriellen Blutflusses nach Leberresektion zu beobachten (*Tabelle 2, Abbildung 20 A*)

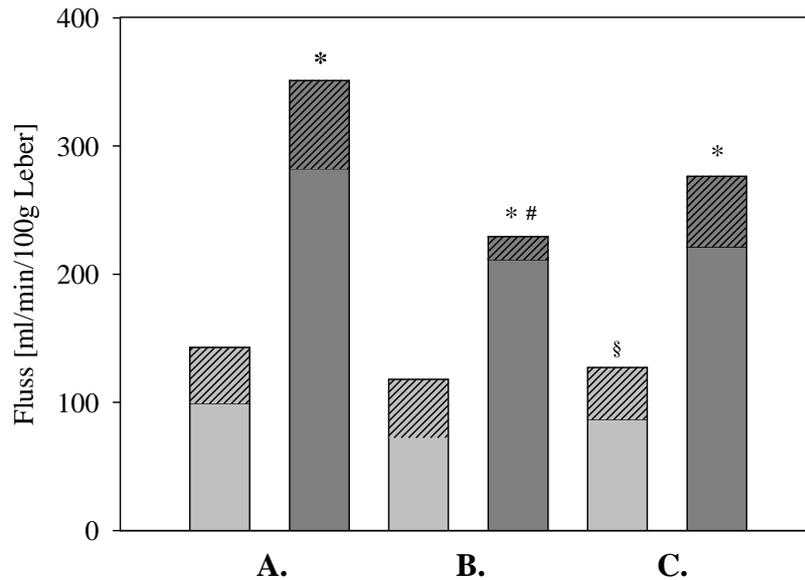


Abbildung 20: Verteilung des Gesamtleberblutflusses jeweils unter Ausgangsbedingungen (100% portalvenöser Blutfluss) in Kontrolltieren (A.), unter L-Name- (B.) und unter Levosimendan-Applikation (C.). Gesamtleberblutfluss bei sham-operierten Tieren (□) und nach Leberteilresektion (▨), Fluss in der Pfortader (nicht schraffierte Flächen) und in der Leberarterie (schraffierte Flächen). * $p < 0,05$ Gesamtleberfluss und portalvenöser Fluss vs. sham-operierte Tiere. # $p < 0,05$ hepatoarterieller Fluss vs. sham-operierte Tiere und vs. Kontrollen ohne Medikament. § $p < 0,05$ portalvenöser Fluss vs. Kontrollen ohne Medikament.

Die Levosimendan-Gruppe zeigte ebenfalls eine signifikante Flusszunahme des Gesamtleberflusses und des portalvenösen Flusses nach Leberresektion im Vergleich zu den sham-operierten Tieren (Tabelle 4, Abbildung 20 C). Der hepatoarterielle Fluss nahm nach Leberresektion nur leicht zu. Im Vergleich zu den Tieren ohne Medikamentenapplikation bewirkte Levosimendan bei den sham-operierten Tieren eine signifikante Abnahme des portalvenösen Flusses. Diese war bei leberteilresezierten Tieren unter Levosimendan nicht zu beobachten (Abbildung 20 A vs. 20 C). Sowohl bei sham-operierten Tieren als auch nach Leberresektion gab es keinen signifikanten Unterschied zu den Kontrolltieren ohne Medikamentenapplikation bezüglich des Gesamtleberflusses und des hepatoarteriellen Flusses (Abbildung 20 A vs. 20 C). Im Gegensatz zu der L-Name Gruppe (Abbildung 20 B) erfuhr der hepatoarterielle Fluss in der Levosimendangruppe keine signifikante Änderung, sondern blieb nach Leberresektion konstant (Tabelle 4, Abbildung 20 B. vs. 20 C.). Diese Beobachtung war vergleichbar mit den Tieren unter Ausgangsbedingungen ohne Medikamentenapplikation (Abbildung 20 A, Tabelle 2).

4.2.2.2. Prozentualer Anteil des portalvenösen und hepatoarteriellen Blutflusses am Gesamtleberblutfluss

Bei den sham-operierten Tieren unter Medikamentenapplikation, lag das Verhältnis von portalvenösem zu hepatoarteriellem Fluss (wie bei den Tieren unter Ausgangsbedingungen) in der L-Name Gruppe bei 67: 33 und in der Levosimendan Gruppe bei 70:30.

Nach Leberresektion blieb das Verhältnis in der Levosimendangruppe wieder ähnlich demjenigen ohne Medikamentenapplikation bei 80:20. Signifikant war die Verschiebung des Verhältnisses zugunsten des portalvenösen Flusses auf 93:7 in der L-Name Gruppe. Der hepatoarterielle Fluss trug hier nur zu einem sehr geringen Anteil zum Gesamtleberfluss bei.

L-Name	Anteil am Gesamtleberblutfluss [%]	
	Kontrollen	Leberresektion
portalvenöser Blutfluss	66,76 ± 4,43	92,83 ± 3,51*
hepatoarterieller Blutfluss	33,24 ± 4,43	7,17 ± 3,51*
Levosimendan		
portalvenöser Blutfluss	69,82 ± 6,91	79,39 ± 3,39
hepatoarterieller Blutfluss	30,18 ± 6,91	20,61 ± 3,39

Tabelle 5: Prozentualer Anteil des portalvenösen und hepatoarteriellen Blutflusses am Gesamtleberblutfluss von sham-operierten (Kontrollen) und von leberteilresezierten Tieren (Leberresektion) unter L-Name oder Levosimendan Applikation. MW ± SEM. * $p < 0,05$ vs. Kontrollen.

4.2.3. Drosselung des portalvenösen Flusses

4.2.3.1. HABR ohne Medikamentenapplikation

Mikromanipulator-gesteuert erfolgte eine Tourniquet-induzierte Reduktion des portalvenösen Blutflusses bei Kontrolltieren und bei leberteilresezierten Tieren von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0% der Ausgangswerte. Es wurden der manuell veränderte portalvenöse Blutfluss und der sich einstellende hepatoarterielle Blutfluss aufgezeichnet. Sowohl bei Kontrolltieren ohne Leberresektion als auch bei leberteilresezierten Tieren war nach konsekutiver Drosselung ein unmittelbarer hepatoarterieller Flussanstieg im Sinne einer HABR festzustellen (Abbildung 21).

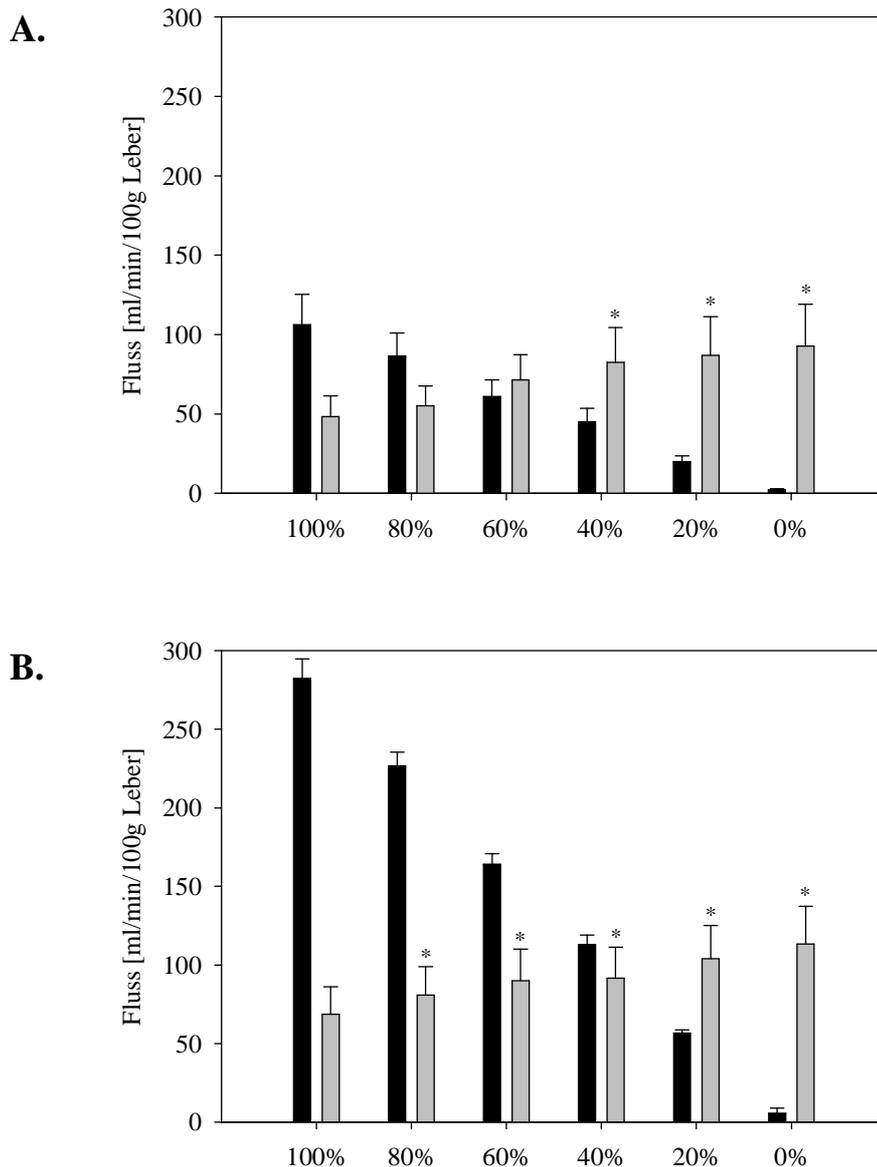


Abbildung 21: Beispiel einer positiven HABR: Anstieg des Flusses in der *A. hepatica* bei Drosselung des portalvenösen Flusses um jeweils 20%. sham-operierte Tiere (A.) und leberteilresezierte Tiere (B.). Portalvenöser (■) und hepatoarterieller (□) Blutfluss. MW \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. 100%.

Mit Reduktion des portalvenösen Flusses auf 40% stieg der hepatoarterielle in sham-operierten Tieren signifikant um ca. 34,27 ml/min/100g Leber an. In leberteilresezierten Tieren stieg der hepatoarterielle Fluss bereits bei nur 20% Reduktion des portalvenösen Flusses signifikant um 12,10 ml/min/100g Leber an.

Vergleicht man nun die portalvenösen Flüsse im Verlauf einer Messung bei portalvenöser Drosselung von sham-operierten Tieren mit denjenigen von leberteilresezierten Tieren ohne

Medikamentengabe, so ist ein signifikanter venöser Flussanstieg nach Leberresektion während der gesamten Messreihe (100% bis 20%) festzustellen (Tabelle 2, Abbildung 22 A).

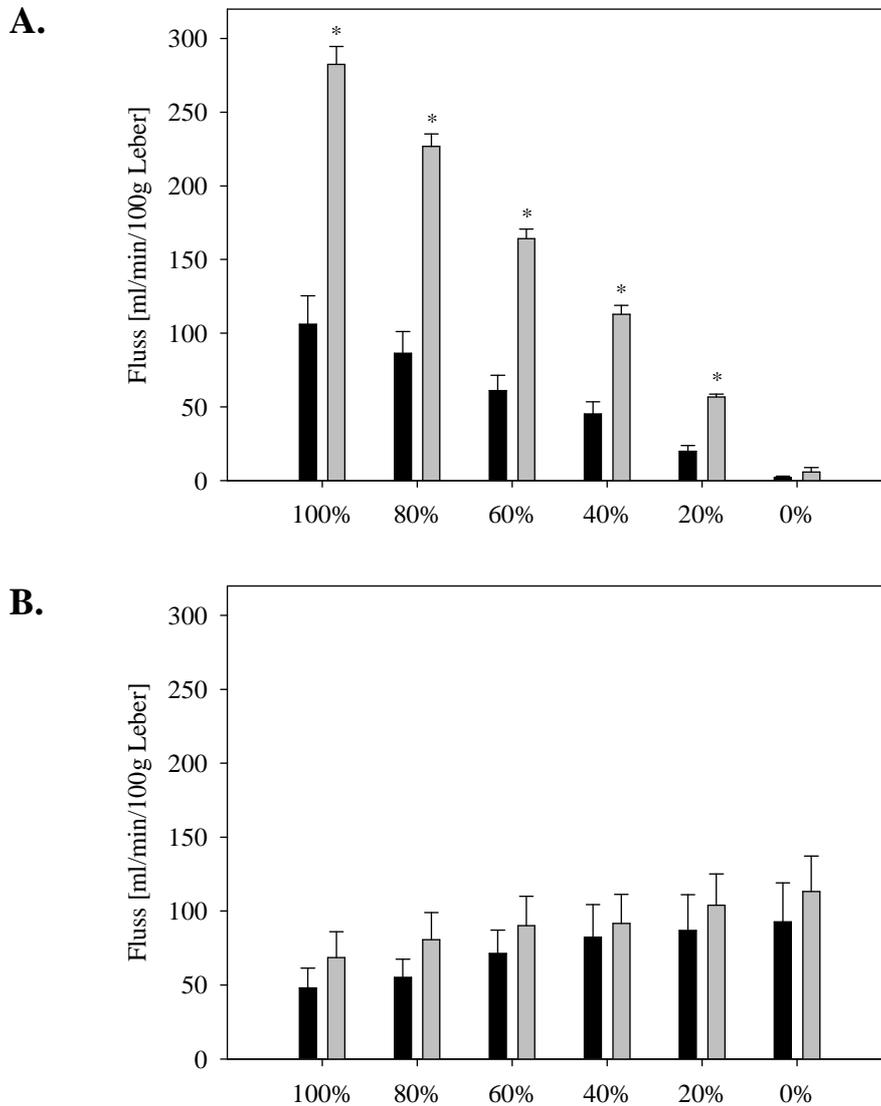


Abbildung 22: Portalvenöse Flussdrosselung (A.) und konsekutiver hepatoarterieller Flussanstieg (B.) ohne Medikamentenapplikation im Vergleich sham-operierte Tiere (■) und leberteilresezierte Tiere (□). MW \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. Kontrolltiere ohne Resektion.

Durchschnittlich vergrößerte sich das portalvenöse Flussvolumen nach Resektion um 267%. Anders verhielt sich der hepatoarterielle Fluss: nach Leberresektion kam es zu keiner signifikanten Flussänderung im Vergleich zu den sham-operierten Tieren (Abbildung 22 B). Das komplette Ausmaß der hier beobachteten HABR konnte bei kompletter portalvenöser Stase (d.h. 0% Fluss) beobachtet werden; in sham-operierten Tieren stieg der hepatoarterielle

Fluss bis auf 192% und bei leberteilresezierten Tieren bis auf 165% der Basalwerte an. Es schien also eine etwas stärkere hepatoarterielle Antwort im Sinne einer HABR bei sham-operierten Tieren gegeben zu haben als bei leberteilresezierten Tieren.

4.2.3.2. HABR bei sham-operierten Tieren unter L-NAME Applikation

Im nachfolgenden Studienabschnitt erfolgte mikromanipulator-gesteuert eine Tourniquet-induzierte Reduktion des portalvenösen Blutflusses bei sham-operierten Tieren von 100% auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0% der Ausgangswerte, wobei zunächst eine Messung vor der Medikamentenapplikation erfolgte, die zweite Messung wurde nach intrahepatischer L-Name Applikation aufgezeichnet. Es wurden der manuell veränderte portalvenöse Blutfluss und der sich einstellende hepatoarterielle Blutfluss vor und nach L-Name-Applikation festgehalten.

Nach intrahepatischer Bolusinjektion des NOS-Hemmers L-Name war nach konsekutiver portalvenöser Drosselung ein unmittelbarer hepatoarterieller Flussanstieg im Sinne einer HABR festzustellen (*Abbildung 23*), wobei eine im Vergleich zu Kontrollen geringere HABR mit einem hepatoarteriellen Anstieg von 156% auszumachen war (Anstieg von 192% ohne L-Name). Bei Reduktion des portalvenösen Flusses von 100% auf 80% der Basalwerte war sogar eine leichte absolute Verminderung des hepatoarteriellen Blutflusses von $45,12 \pm 8,07$ auf $40,34 \pm 7,57$ ml/min/100g Leber zu beobachten. Bei weiterer Drosselung folgte aber ein Wiederanstieg des hepatoarteriellen Flusses bis auf $70,41 \pm 19,26$ ml/min/100g Leber. Bis zu einer 40%igen Drosselung zeigte sich kaum ein Flussanstieg in der A. hepatica. Erst ab 20% portalvenösem Fluss war ein sprunghafter Anstieg zu verzeichnen, der dann kaum weiter zunahm (*Abbildung 23*). Es ergab sich ein signifikanter hepatoarterieller Flussanstieg bei Reduktion des portalvenösen Blutflusses um 80% und bei komplettem Stillstand des portalen Flusses.

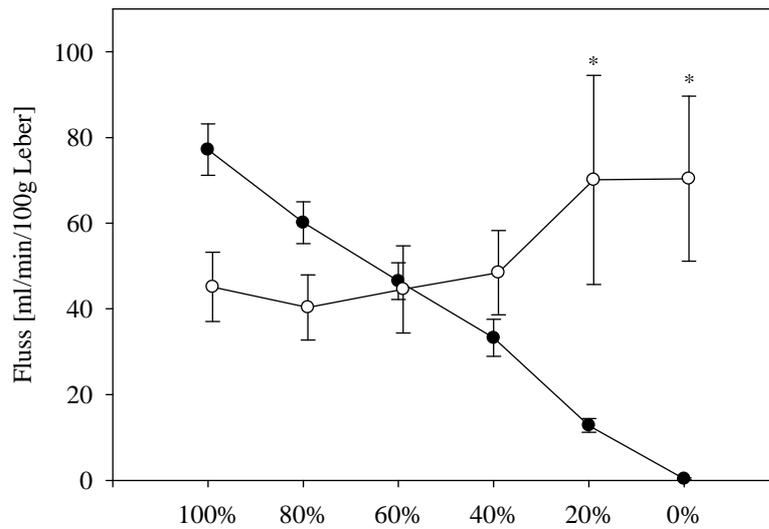


Abbildung 23: Schrittweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0% der Ausgangswerte bei Tieren ohne Leberresektion nach L-Name-Applikation. Portalvenöser Fluss (●), hepatoarterieller Fluss (○). MW ± SEM. * $p < 0,05$ vs. 100% portalvenöser Blutfluss.

Vergleicht man den portalvenösen Fluss nach L-Name-Applikation mit demjenigen unter Ausgangsbedingungen, so war eine insgesamt leichte Abnahme des portalvenösen Blutflusses nach Gabe von L-Name zu beobachten (*Abbildung 24 A*), die bei Drosselung bestehen blieb. Es konnte sogar eine signifikante Flussreduktion bei 80% des Ausgangsflusses verzeichnet werden.

Bei Betrachtung der beiden hepatoarteriellen Flüsse - mit und ohne L-Name-Applikation - so konnte eine Reduktion des arteriellen Flusses nach L-Name-Applikation während der gesamten Messreihe verzeichnet werden. Bei 60% und 20% der Ausgangsbedingungen konnte sogar eine signifikante Flussreduktion nach L-Name-Gabe im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne L-Name festgestellt werden (*Abbildung 24 B*).

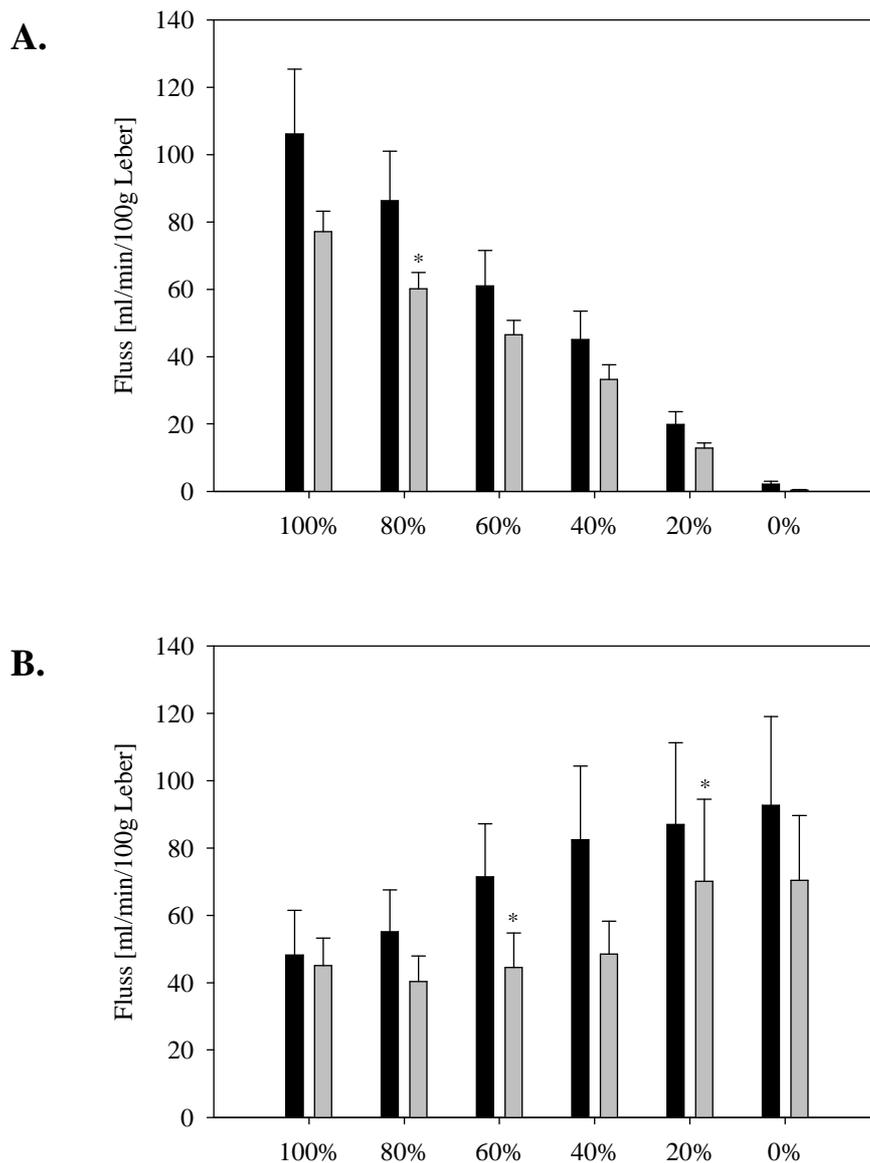


Abbildung 24: Portalvenöse Flussdrosselung (A.) und konsekutiver hepatoarterieller Flussanstieg (B.) unter Ausgangsbedingungen (■) und nach L-Name-Applikation (□) bei sham-operierten Tieren. $MW \pm SEM$. * $p < 0,05$ vs. Ausgangsbedingungen.

4.2.3.3. HABR bei teilresezierter Leber unter L-NAME-Applikation

Zur Untersuchung der Auswirkung einer L-Name-Applikation auf den portalvenösen und hepatoarteriellen Fluss nach ausgedehnter Leberresektion wurde einer Gruppe von 6 Tieren zu Beginn der Messung ca. 70% der Leber reseziert. Nach Einstellung eines gleichmäßigen Blutflusses erfolgte die erste Messung ohne Medikament, um danach eine postmedikamentöse Messung nach intraarterieller L-Name-Injektion durchzuführen.

Abbildung 25 zeigt die stufenweise Drosselung des portalvenösen Blutflusses nach Medikamentengabe und die hepatoarterielle Flusssteigerung im Sinne einer HADR. Der Flussanstieg wies ein Ausmaß von 400% auf ($17,95 \pm 7,70$ vs. $71,92 \pm 16,07$ ml/min/100g Leber), was dem 2,4 fachen des Anstieges bei resezierten Tieren ohne L-Name (165%) entspricht. Es ergab sich ein signifikanter hepatoarterieller Flussanstieg bei Reduktion des portalvenösen Blutflusses um 80% und bei komplettem Stillstand des portalen Flusses.

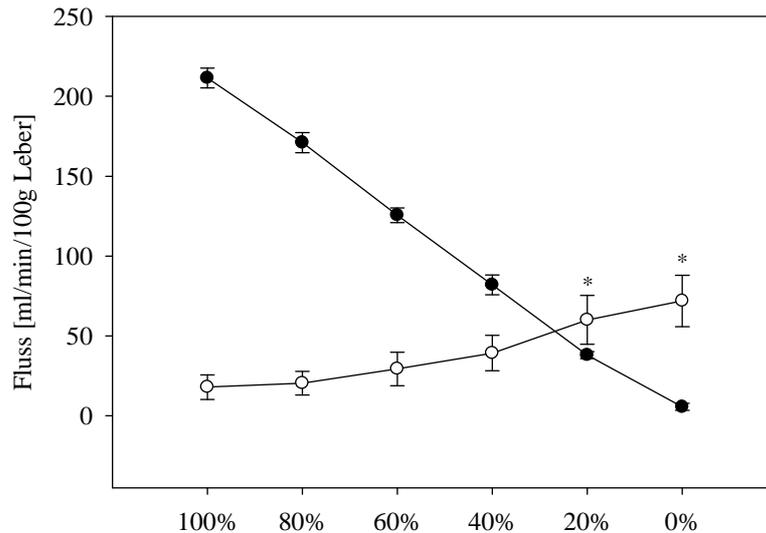


Abbildung 25: Schrittweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0% der Ausgangswerte bei Tieren mit Leberresektion nach L-Name-Applikation. Portalvenöser Fluss (●), hepatoarterieller Fluss (○). MW \pm SEM. * $p < 0,001$ vs. 100% portalvenöser Blutfluss.

Vergleich man den portalvenösen und hepatoarteriellen Fluss nach L-Name-Applikation mit demjenigen unter Ausgangsbedingungen, so war eine insgesamt signifikante Abnahme des portalvenösen und hepatoarteriellen Blutflusses nach Gabe von L-Name zu beobachten, die bei Drosselung bestehen blieb (Abbildung 26). Der portalvenöse Fluss war nach L-Name-Gabe bei 100%, 80%, 60%, 40%, und 20% signifikant zu den nicht medikamentös behandelten leberteilresezierten Tieren erniedrigt. Während bei sham-operierten Tieren die Gabe von L-Name nur eine signifikante Erniedrigung des portalvenösen Flusses bei 80% aufwies (Abbildung 24 A), zeigte sich bei den leberteilresezierten Tieren nach L-Name-Applikation eine durchgehend signifikante portalvenöse Flussreduktion, bei jeder Stufe der Drosselung (Abbildung 26 A).

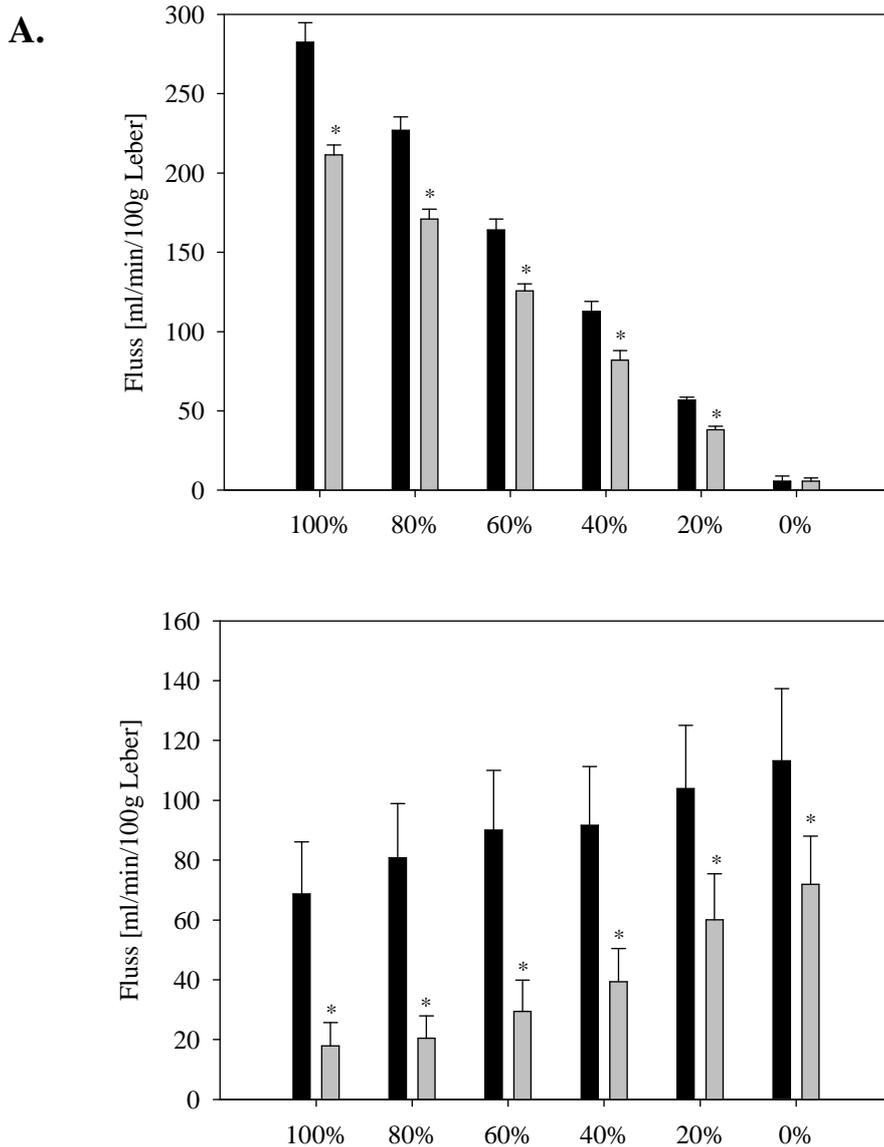


Abbildung 26: Portalvenöse Flussdrosselung (A.) und konsekutiver hepatoarterieller Flussanstieg (B.) unter Ausgangsbedingungen (■) und nach L-Name-Applikation (□) bei leberteilresezierten Tieren. $MW \pm SEM$. * $p < 0,05$ vs. Ausgangsbedingungen.

Der hepatoarterielle Fluss war hier (Abbildung 26 B) im Gegensatz zu den Tieren ohne Leberresektion (Abbildung 24 B) nach L-Name-Applikation auf jeder Stufe der Drosselung signifikant reduziert. Während der gesamten Messreihe, 100% bis 0% portalvenösen Blutflusses, blieb der hepatoarterielle Fluss nach L-Name-Applikation unter demjenigen ohne L-Name.

4.2.3.4. HABR bei sham-operierten vs. leberteilresezierten Tieren unter L-NAME-Applikation

Beim Vergleich aller mit L-Name behandelten Tiere untereinander wurden die sham-operierten und die leberteilresezierten Tiere unterschieden. Ziel dieses Vergleichs war die Frage, ob L-Name eine größere Wirkung auf den hepatoarteriellen Fluss hatte, wenn die Tiere kurz vorher einer teilweisen Leberresektion unterzogen wurden (*Abbildung 27*).

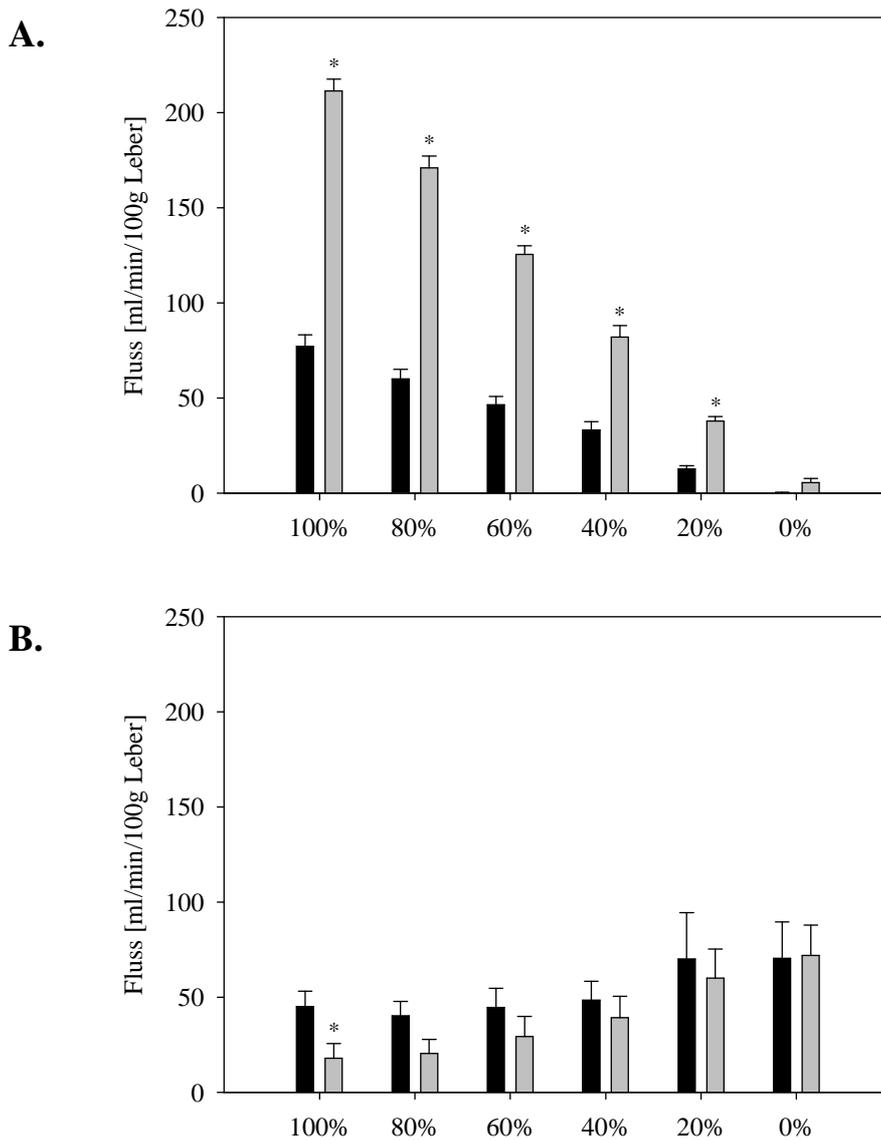


Abbildung 27: Portalvenöse Flussdrosselung (A.) und konsekutiver hepatoarterieller Flussanstieg (B.) unter L-Name-Applikation bei sham-operierten Tieren (■) und nach Leberresektion (□). MW ± SEM. * $p < 0,05$ vs. sham-operierte Tiere.

Verglich man die portalvenösen Flüsse der Tiere vor und nach Leberresektion, so konnte auf jeder Stufe der Drosselung eine signifikante Flusszunahme der einer Resektion unterzogenen Tiere verzeichnet werden (*Abbildung 27 A*). Bei 100% portalvenösem Fluss war unter L-Name nach Leberresektion eine Flusssteigerung um 290% beobachtet werden. Diese Daten unterschieden sich nicht von demjenigen ohne Medikamentengabe (*Abbildung 22*). Ohne L-Name war eine ähnliche, 184%ige, portalvenöse Flusssteigerung nach Leberresektion zu verzeichnen.

Betrachtete man die hepatoarteriellen Flüsse ohne sowie mit Leberresektion nach L-Name-Applikation, so konnte man bei 100% portalvenösem Fluss eine signifikante Flusssenkung in der A. hepatica feststellen ($45,12 \pm 8,07$ vs. $17,95 \pm 7,7$ ml/min/100g Leber), also eine 60%ige Flussabnahme durch L-Name. Im Zuge der weiteren Drosselung zeigte sich jedoch keine weitere Signifikanz mehr, wobei der hepatoarterielle Fluss bei resezierten Tieren aber andeutungsweise niedriger war als bei Kontrollen ohne Resektion (*Abbildung 27 A*).

Vergleicht man diese Graphik mit *Abbildung 22*, so muss man feststellen, dass der hepatoarterielle Fluss ohne L-Name nach Leberresektion tendenziell höher war als derjenige bei sham-operierten Tieren. Unter L-Name war der hepatoarterielle Fluss nach Leberresektion tendenziell niedriger, bei 100% portalvenösem Fluss sogar signifikant niedriger (*Abbildung 27*).

4.2.3.5. HARR bei sham-operierten Tieren unter Levosimendan-Applikation

Im nachfolgenden Studienabschnitt wurde bei sham-operierten und bei leberteilresezierten Tieren die portalvenöse Blutflussreduktion insgesamt fünf Mal durchgeführt, wobei die erste Messung vor der Medikamentenapplikation und die zweite Messung nach der intrahepatischen Levosimendan-Gabe und während einer kontinuierlichen Levosimendan-Infusion in die A. hepatica aufgezeichnet wurde. Es wurden der manuell veränderte portalvenöse Blutfluss und der sich einstellende hepatoarterielle Blutfluss vor und nach Levosimendan-Gabe festgehalten.

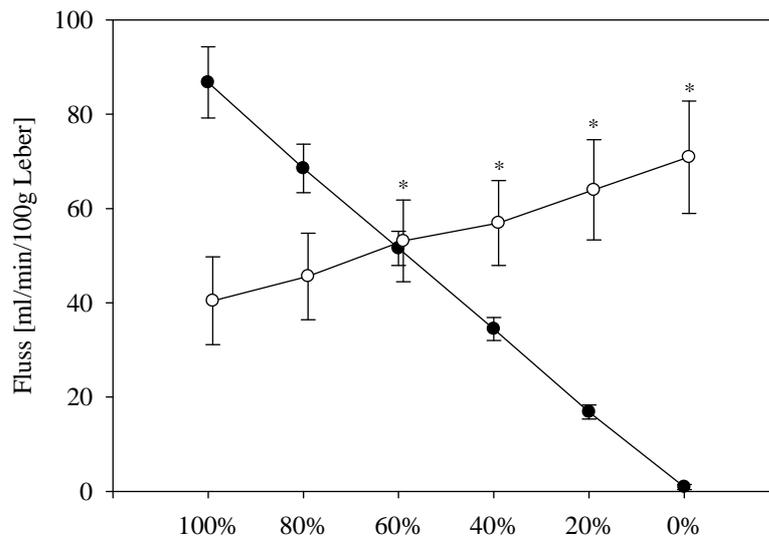


Abbildung 28: Schrittweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0% der Ausgangswerte bei sham-operierten Tieren nach Levosimendan-Applikation. Portalvenöser Fluss (●), hepatoarterieller Fluss (○). MW \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. 100%.

Auf die portalvenöse Flussdrosselung war unter Levosimendan-Applikation eine HABR zu beobachten. Bei 60%, 40%, 20% und 0% portalvenösen Blutflusses zeigte sich eine signifikante hepatoarterielle Flusssteigerung im Sinne einer HABR im Vergleich zu 100% portalvenösem Blutfluss (*Abbildung 28*).

Verglich man den portalvenösen und hepatoarteriellen Fluss nach Levosimendan-Applikation mit demjenigen vor Medikamentenapplikation, so war insgesamt eine Abnahme des portalvenösen Blutflusses nach Gabe von Levosimendan zu beobachten (*Abbildung 29 A*). Es konnte sogar eine signifikante Flussreduktion bei 100%, 80%, 60% und 40% verzeichnet werden. Bei Betrachtung der beiden hepatoarteriellen Flüsse - mit und ohne Levosimendan-Applikation - konnte keine signifikante Flussänderung im Vergleich der beiden Gruppen festgestellt werden (*Abbildung 29 B*).

Die hepatoarterielle Flusssteigerung im Sinne einer HABR lag bei sham-operierten Tieren ohne Levosimendan mit 192% über derjenigen mit Levosimendan-Applikation mit 175%.

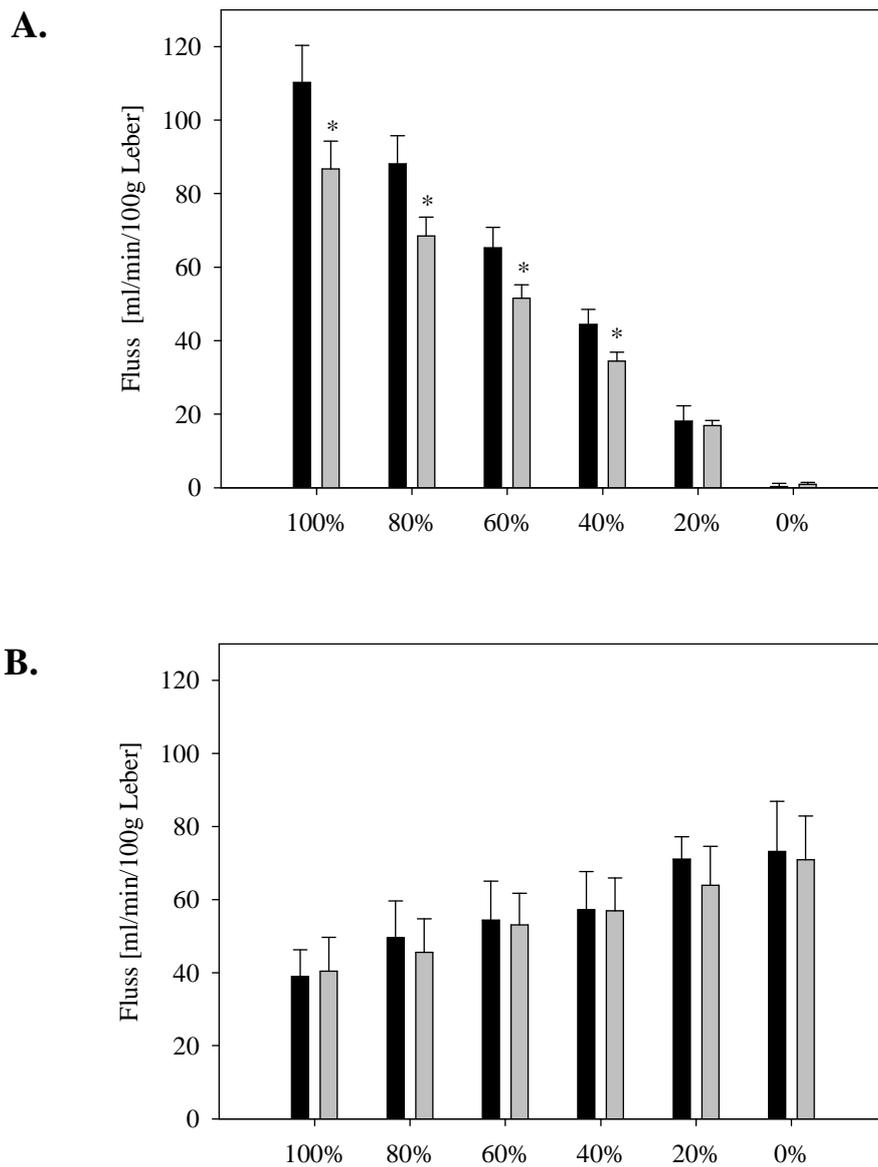


Abbildung 29: Portalvenöse Flussdrosselung (A.) und konsekutiver hepatoarterieller Flussanstieg (B.) bei sham-operierten Tieren unter Ausgangsbedingungen (■) und nach Levosimendan-Applikation (□). MW \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. Ausgangsbedingungen.

4.2.3.6. HABR bei teilresezierter Leber unter Levosimendan-Applikation

Zur Untersuchung der Auswirkung einer Levosimendan-Applikation auf den portalvenösen und hepatoarteriellen Fluss nach ausgedehnter Leberresektion, wurden 8 Tiere zu Beginn der Messung einer 70%igen Leberresektion unterzogen. Nach Einstellung eines gleichmäßigen Blutflusses erfolgte die erste Messung ohne Medikament. Eine postmedikamentöse Messung

wurde nach intrahepatischer Levosimendan-Applikation und kontinuierlicher Levosimendan-Infusion mittels Perfusor durchgeführt.

Abbildung 30 zeigt die stufenweise Drosselung des portalvenösen Blutflusses nach Medikamentenapplikation und die hepatoarterielle Flussteigerung im Sinne einer HABR.

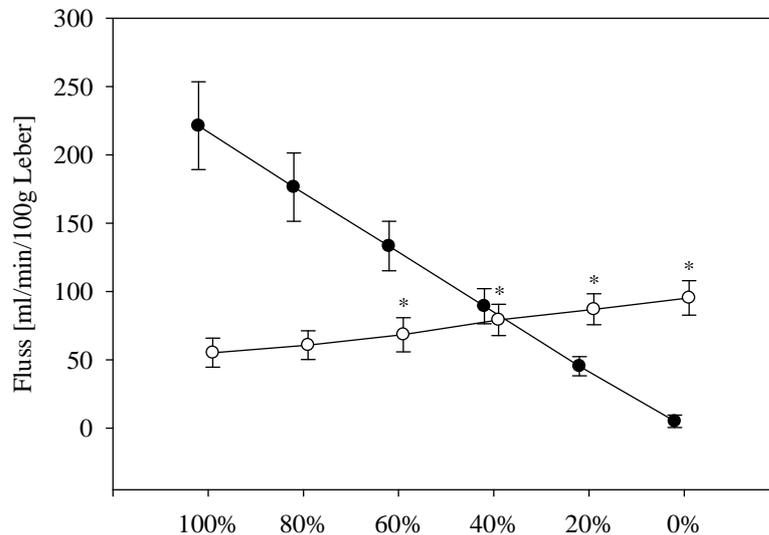


Abbildung 30: Schrittweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses auf 80%, 60%, 40%, 20% und 0% der Ausgangswerte bei Tieren mit Leberresektion nach Levosimendan-Applikation. Portalvenöser Fluss (●), hepatoarterieller Fluss (○). MW ± SEM. * $p < 0,05$ vs. 100%.

Bei 60%, 40%, 20% und 0% der Ausgangswerte des portalvenösen Flusses konnte eine signifikante hepatoarterielle Flussteigerung - bezogen auf 100% portalvenösen Fluss - festgestellt werden (Abbildung 30).

Beim Vergleich der portalvenösen Flüsse leberteilresezierter Tiere vor und nach Levosimendan-Gabe konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. In der Annahme einer Levosimendan-induzierten portalvenösen Flusssenkung in sham-operierten Tieren (Abbildung 29 A) kann hier also von einer indirekten Flussteigerung gesprochen werden. Es waren jedoch bei keiner Stufe der Flussdrosselung signifikante Unterschiede zwischen den zwei Gruppen auszumachen (Abbildung 30 A).

Verglich man den hepatoarteriellen Fluss vor und nach Levosimendan-Applikation, so konnte bei 60%igem portalvenösem Fluss eine signifikante Flussenkung nach Levosimendan-Applikation beobachtet werden. Ansonsten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der hepatoarteriellen Flüsse in den beiden Gruppen mit Leberresektion (Abbildung 31 B).

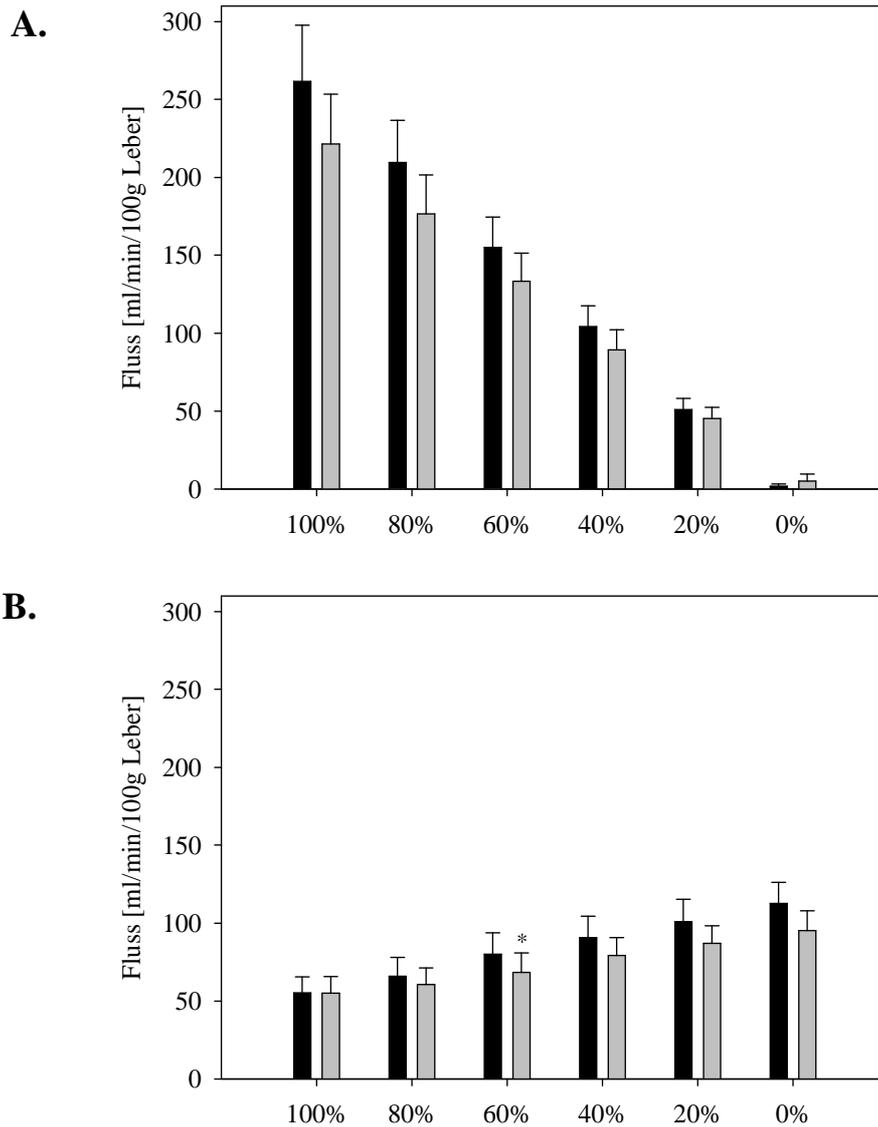


Abbildung 31: Portalvenöse Flussdrosselung (A.) und konsekutiver hepatoarterieller Flussanstieg (B.) unter Ausgangsbedingungen (■) und nach Levosimendan-Applikation (□) bei leberteilresezierten Tieren. MW \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. Ausgangsbedingungen.

Die Zunahme des hepatoarteriellen Flusses wies ein Ausmaß von 173% auf, was keinen signifikanten Unterschied zu nicht resezierten Tieren mit Levosimendan (175%, *Abbildung 29 B*) darstellte.

Es konnten Unterschiede zu Kontrolltieren ohne Medikamentenapplikation festgestellt werden: der hepatoarterielle Flussanstieg lag bei sham-operierten Tieren ohne Levosimendan bei 192% somit höher als bei sham-operierten Tieren mit Levosimendan (175%). Andererseits

fiel die HABR bei leberteilresezierten Tieren ohne Levosimendan mit 165% (*Abbildung 21 B*) niedriger aus als in der Gruppe mit Levosimendan (173%, *Abbildung 30*).

Tabelle 6 zeigt eine Übersicht des hepatoarteriellen Flussanstieges im Sinne einer HABR bei sham-operierten und leberteilresezierten Tieren jeweils bei Kontrollen, unter L-Name oder Levosimendan-Applikation.

	hepatoarterieller Anstieg des Blutflusses	
	sham-operierte Tiere	leberteilresezierte Tiere
Kontrollen	192%	165%
mit L-Name	152%	400%
mit Levosimendan	175%	173%

Tabelle 6: Hepatoarterieller Anstieg des Blutflusses im Sinne einer HABR im Vergleich: bei sham-operierten und leberteilresezierten Tieren mit L-Name- oder Levosimendan-Applikation und bei Kontrollen.

4.2.3.7. HABR bei sham-operierten vs. leberteilresezierten Tieren unter Levosimendan-Applikation

Zur Klärung, ob eine Levosimendan-Applikation eine Änderung der hepatischen Flüsse in der teilresezierten Leber im Vergleich zu sham-operierten Tieren bewirkt, wurden die Flüsse jeweils unter Levosimendan-Applikation in der gesunden und teilresezierten Leber verglichen (*Abbildung 32*).

Beim Vergleich der portalvenösen Flüsse der Tiere vor und nach Leberresektion konnte auf jeder Stufe der Drosselung eine signifikante Flusszunahme der einer Resektion unterzogenen Tiere verzeichnet werden (*Abbildung 32 A*). Hier zeigten sich keine Unterschiede im Vergleich zu demjenigen ohne Medikamentengabe (*Abbildung 22 A*) oder unter L-Name-Applikation (*Abbildung 27 A*).

Bei der Gegenüberstellung der hepatoarteriellen Flüsse unter Levosimendan-Applikation konnte keine signifikante Flussänderung zwischen sham-operierten und Tieren mit Leberresektion festgestellt werden (*Abbildung 32 B*). Es wurde ein nicht signifikanter leichter hepatoarterieller Anstieg bei den leberteilresezierten Tieren im Vergleich zu Tieren mit gesunder Leber verzeichnet, was doch auf eine Levosimendan vermittelte hepatoarterielle Flusszunahme hindeuten könnte. Levosimendan scheint hier also keine eindeutigen

Veränderungen der hepatoarteriellen Flüsse zu bewirken. Es ist lediglich eine angedeutete hepatoarterielle Flusszunahme nach ausgedehnter Leberresektion feststellbar.

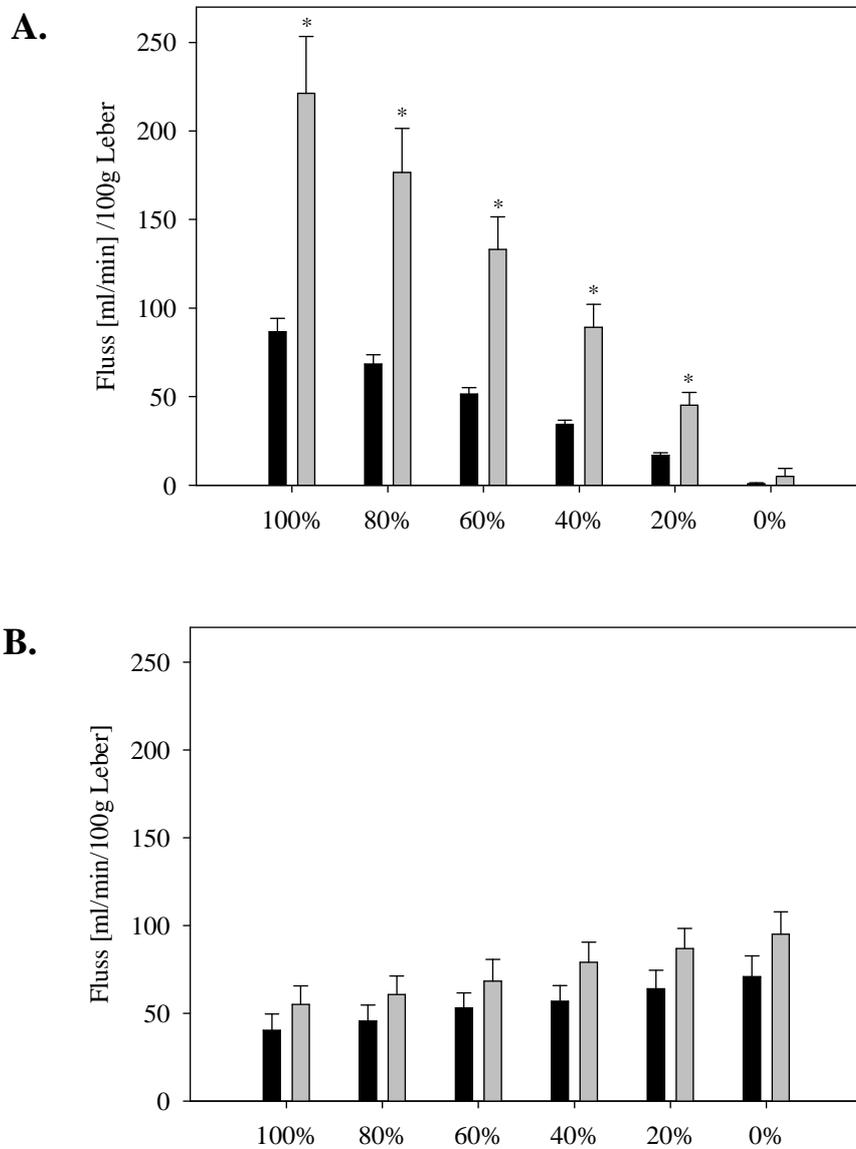


Abbildung 32: Portalvenöse Flussdrosselung (A.) und konsekutiver hepatoarterieller Flussanstieg (B.) unter Levosimendan-Applikation bei sham-operierten Tieren (■) und nach Leberresektion (□). $MW \pm SEM$. * $p < 0,05$ vs. sham-operierte Tiere.

4.3. Histologie

Die Analyse der mit Hämatoxylin und Eosin gefärbten Gewebeproben ergab keine signifikanten Unterschiede in der Lebermorphologie zwischen den beiden Gruppen. Die histologischen Veränderungen, wie Vakuolisierung, Grobscholligkeit des Zytoplasmas oder Zellkerndeformation, waren sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren leicht bis mäßig ausgeprägt.

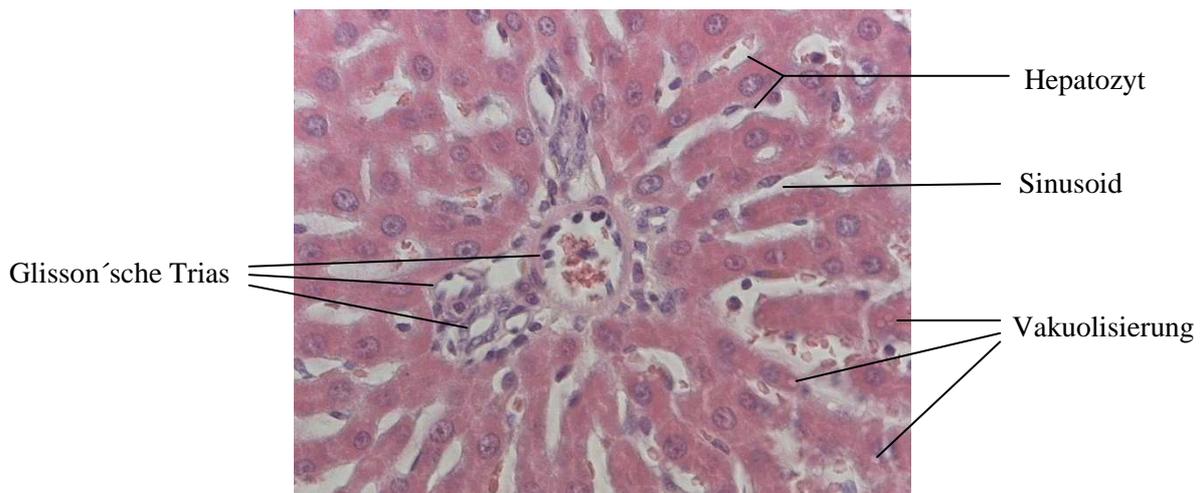


Abbildung 33: Hämatoxylin und Eosin gefärbter histologischer Schnitt einer Leber als Beispiel einer leichtgradigen Vakuolisierung.

4.4. Immunhistochemie (PCNA)

Die Analyse der Zellproliferation mittels PCNA-Färbung zeigte erwartungsgemäß in beiden Gruppen eine geringe Anzahl PCNA-positiver Zellen. Diese lag sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren unter 10%, so dass in beiden Fällen ein niedriger Index von 1 vorlag.

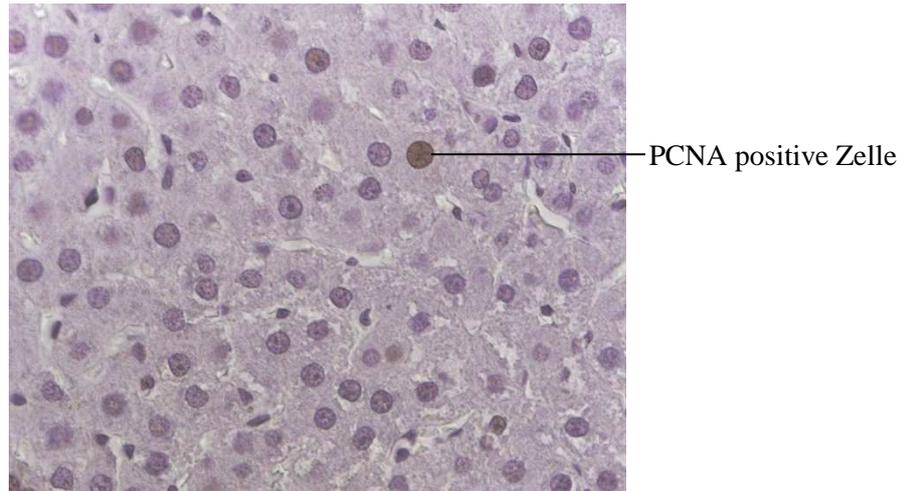


Abbildung 34: Beispiel einer PCNA positiven Zelle

4.5. Western Blot Analyse

eNOS und iNOS Expression

Um die Rolle des Stickstoffmonoxids bei der Regulierung der Leberperfusion nach einer partiellen Hepatektomie zu untersuchen, wurden Proteinexpressionen der induzierbaren NO-Synthase (iNOS) als auch der endothelialen NO-Synthase (eNOS) im Lebergewebe mittels Western-Blot Analyse bestimmt.

Die Quantifikation der Western-Blot-Untersuchungen zeigte einen signifikanten Anstieg sowohl der iNOS ($1,59 \pm 0,41$ vs. $9,93 \pm 4,23$ OD \times mm²) als auch der eNOS ($3,73 \pm 0,50$ vs. $7,99 \pm 1,14$ OD \times mm²) im Lebergewebe nach einer 70%igen Hepatektomie (*Abbildung 35*).

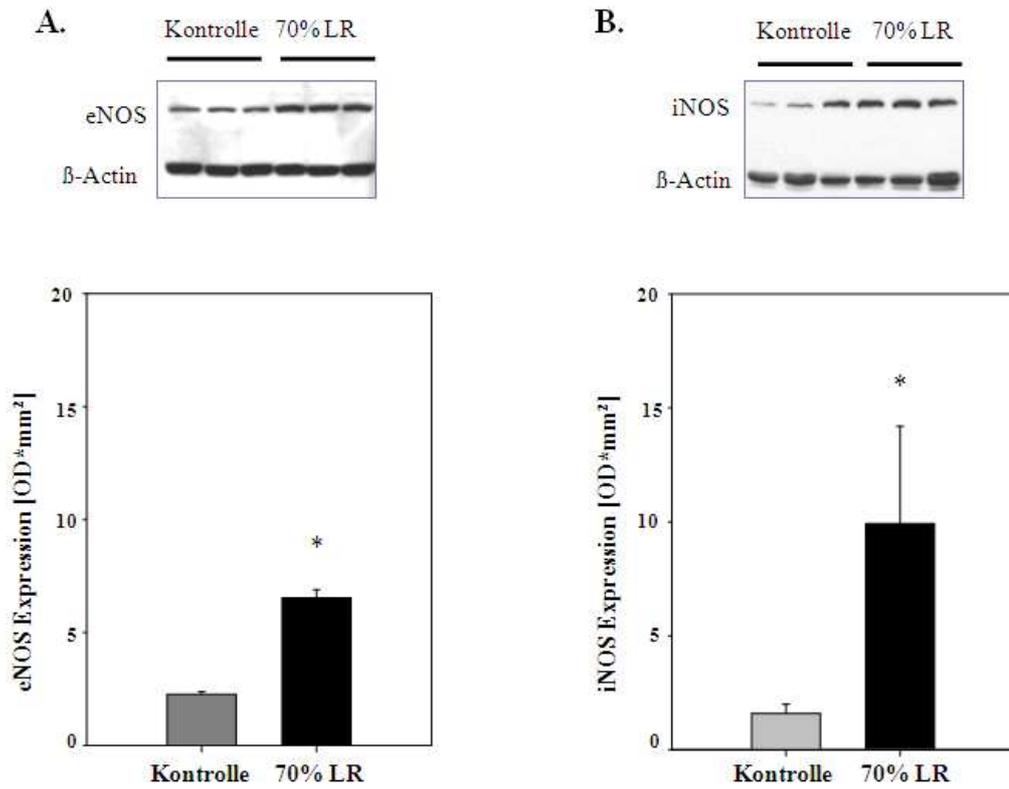


Abbildung 35: Expression der endothelialen NO-Synthase (eNOS) und induzierbaren NO-Synthase (iNOS). Western Blot Analyse für eNOS (A.) und iNOS (B.) ohne Hepatektomie und drei Stunden nach einer Leberteilresektion (LR). Hepatektomie bewirkte einen signifikanten Anstieg der eNOS und iNOS Expression im Lebergewebe. MW \pm SEM. * $p < 0,05$ vs. Kontrollen.

4.6. Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser Arbeit konnten folgende Ergebnisse herausgearbeitet werden:

- Eine ausgedehnte Leberresektion bewirkt keine Änderung des systemisch arteriellen Blutdruckes.
- Bei Drosselung des portalvenösen Blutflusses kommt es sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren zu einem signifikanten Anstieg des systemisch arteriellen Blutdruckes, der in beiden Gruppen ähnlich ausfällt.
- Eine L-Name Applikation bewirkt sowohl in sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren einen Blutdruckanstieg, wobei dieser bei sham-operierten Tieren ausgeprägter ist.
- Levosimendan verursacht keine systemisch arterielle Blutdruckänderung bei sham-operierten Tieren, aber einen signifikanten Blutdruckabfall bei leberteilresezierten Tieren.
- Nach ausgedehnter Leberteilresektion ist eine Erhöhung des Gesamtleber- und des portalvenösen Blutflusses festzustellen, es ist aber keine Änderung des hepatoarteriellen Flusses nachweisbar, so dass sich die anteilmäßige Verteilung des Gesamtleberblutflusses signifikant zugunsten des portalvenösen Flusses verschiebt.
- Sowohl bei leberteilresezierten als auch bei sham-operierten Tieren ist bei portalvenöser schrittweiser Flussdrosselung ein signifikanter hepatoarterieller Flussanstieg im Sinne einer HABR zu beobachten, wobei die relative Zunahme des hepatoarteriellen Blutflusses bei sham-operierten Tieren größer ist als bei leberteilresezierten Tieren.
- Eine L-Name-Applikation bewirkt bei leberteilresezierten Tieren eine Abnahme des hepatoarteriellen Blutflusses, so dass sich die anteilmäßige Verteilung noch stärker zugunsten des portalvenösen Flusses verschiebt. Bei sham-operierten Tieren ist diese Abnahme des hepatoarteriellen Blutflusses nicht zu beobachten.
- Unter L-Name ist sowohl bei leberteilresezierten als auch bei sham-operierten Tieren eine HABR zu verzeichnen, wobei der relative hepatoarterielle Flussanstieg unter L-Name bei leberteilresezierten Tieren größer ist als bei sham-operierten Tieren.

- Nach ausgedehnter Leberresektion und konsekutiver portalvenöser Hyperperfusion ist unter L-Name eine Reduktion des hepatoarteriellen Blutflusses zu beobachten, wobei der hepatoarterielle Fluss ohne L-Name-Applikation keine Änderung aufweist.
- Nach Levosimendan-Applikation und portalvenöser Flussdrosselung ist eine hepatoarterielle Flusssteigerung im Sinne einer HABR festzustellen, sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren.
- Unter Levosimendan ist ein signifikanter portalvenöser Flussabfall bei sham-operierten Tieren zu beobachten.
- Levosimendan bewirkt keine signifikante hepatoarterielle Flussänderung, weder bei leberteilresezierten noch bei sham-operierten Tieren.
- Unter Levosimendan ist ein leichter portalvenöser und hepatoarterieller Flussanstieg bei leberteilresezierten, nicht aber bei sham-operierten Tieren, zu beobachten.
- Levosimendan vermittelt bei leberteilresezierten Tieren eine Zunahme des relativen hepatoarteriellen Flussanstieges im Sinne einer HABR, nicht aber bei sham-operierten Tieren.
- Eine 70%ige Hepatektomie induziert eine signifikante Erhöhung der iNOS- und eNOS-Proteinexpression im Restlebergewebe.

5. Diskussion

5.1. Diskussion des Modells

5.1.1 Wahl des Tiermodells

Das in dieser Arbeit verwendete Kleintiermodell der Ratte bietet gegenüber einem Großtiermodell verschiedene Vorteile. Das ausschlaggebende Argument für die Wahl der Ratte als Versuchstier ist die adäquate Körpergröße und infolgedessen die gute technische Durchführbarkeit, insbesondere bei der mikrochirurgischen Präparation der Gefäße und der Katheterisierung der A. lienalis, die z.B. bei Mäusen oder Hamstern nicht durchführbar gewesen wäre. Ratten sind im Vergleich zu Schweinen wesentlich stressresistenter und daher weniger stressanfällig für kardiovaskuläre Komplikationen, was für vorliegendes Versuchsmodell mit dem ohnehin kreislaufbelastendem operativen Eingriff von entscheidendem Vorteil ist.

Die Rattenleber eignet sich zudem sehr gut zur Durchführung einer partiellen Leberresektion. Einerseits liegen einige standardisierte Techniken zur Resektion eines genau definierten Lebervolumens vor (Higgins und Anderson, 1931; Bengmark, 1973; Panis, 1997), andererseits ist die technische Durchführbarkeit komplikationslos möglich. Die starke Lappung der Rattenleber macht eine basisnahe Entfernung eines gesamten Lappens durch Setzen einer Ligatur möglich, ohne eine große Resektionsfläche mit großem Blutungsrisiko zu hinterlassen. Zudem kann die Anatomie der Rattenleber aufgrund ihrer Lappung und Gefäßversorgung mit der in der Medizin üblichen Einteilung nach Couinaud (1954) in acht Segmente gut verglichen werden.

5.1.2. Modell der Leberteilresektion

Das Modell der Leberresektion an der Ratte von Higgins und Anderson (Higgins und Anderson, 1931) stellt eine allgemein akzeptierte und einfach durchzuführende Operationsmethode dar. Aufgrund der Lobulierung der Rattenleber ist dieser Eingriff, nach der Tracheotomie und Anlage des Carotis-Katheters, mittels einer medianen Laparotomie in wenigen Minuten ohne Mortalität durchzuführen. Das intraabdominelle Trauma selbst ist

gering, so dass die weitere Präparation nicht erschwert wird und die Untersuchungsergebnisse hierdurch nicht verfälscht werden.

5.1.3. Anästhesie und chirurgische Präparation

Vor Beginn der chirurgischen Präparation wurden die Versuchstiere mittels intraperitonealer Injektion von Pentobarbital anästhesiert. Dieses Barbiturat wird schnell resorbiert, ist lipophil und passiert daher gut die Blut-Hirn-Schranke. Narkotisierend wirkt es durch Hemmung der Formatio retikularis. Die Injektion wurde intraperitoneal vollzogen, da diese Applikationsform einerseits einfach durchführbar ist und sich insbesondere zur Narkoseeinleitung eignet, zum anderen gewährleistet die peritoneale Resorptionsfläche eine gute Steuerbarkeit durch schnelle, jedoch nicht zu rasche Anflutung des Narkotikums. Ebenfalls ist die Narkoseerhaltung durch vorsichtiges Nachträufeln von Pentobarbital in den offenen Situs sehr einfach. Weiterhin ist für Pentobarbital keine Beeinflussung der HABR bekannt (Lautt, 1985; Lautt, 1990), wohingegen für andere Narkotika, wie z.B. das Inhalationsnarkotikum Halothan, eine Aufhebung der HABR beschrieben wird (Gelman, 1987). Allerdings kann Pentobarbital das Herzzeitvolumen und damit den systemischen arteriellen Blutdruck erniedrigen und den peripheren Widerstand erhöhen, ohne jedoch einen wesentlichen Einfluss auf die Perfusion einzelner Organe zu haben (Greenway, 1971). Außerdem hat Pentobarbital einen sehr engen Sicherheitsbereich und es besteht die Gefahr der Hypothermie, kardiovaskulären Depression und Apnoe.

Eine Reduktion der portalvenösen Durchblutung aufgrund Pentobarbital wurde jedoch beschrieben (Seyde, 1985), somit kann eine basale Anästhesie-bedingte Aktivierung der HABR nicht ausgeschlossen werden. Zum Versuchsende diente Pentobarbital zur Tötung der Tiere durch intraarterielle Injektion einer Überdosis. Es kam zu einem abrupten Atemstillstand, das Herz schlug weiter bis Hypoxämie und Hyperkapnie zu einem Herzstillstand führten.

Die chirurgische Präparation erfolgte nach einem von Lautt an Katzen etablierten Modell (Lautt, 1985), wobei in dieser Arbeit die von Lautt vorgegebene Versuchsanordnung auf ein Kleintiermodell adaptiert wurde, zur Analyse der HABR unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen (Richter, 2000).

Die operative Präparation hatte sicherlich einen Einfluss auf die Leberperfusion und damit die HABR: Es erfolgte die Ligatur der Kollateralen zwischen Pfortader und Leberarterie und die

Katheterisierung der A. lienalis, wodurch eine Veränderung der basalen Blutflusswerte sowohl des Truncus coeliacus (hepatoarterieller Blutfluss) als auch der A. mesenterica superior (portalvenöser Blutfluss) nicht ausgeschlossen werden kann (Lautt, 1983). Durch die Katheterisierung der A. lienalis wurde eine funktionelle Splenektomie durchgeführt, dadurch kann der portalvenöse Blutfluss reduziert und die HABR schon vor Messbeginn aktiviert werden (Lautt, 1983), woraus eine Unterschätzung des wahren Ausmaßes der HABR resultieren kann. Letztlich bietet in dieser Arbeit der Anteil des portalvenösen Blutflusses an der Gesamtleberperfusion von 70% unter Ausgangsbedingungen jedoch keinen Anhalt für einen reduzierten portalvenösen Blutfluss, wenn man die anteilige Perfusion von Pfortader (70 bis 80%) und Leberarterie (20 bis 30%) an der Gesamtleberperfusion zu Grunde legt (Lautt, 1987).

5.1.4. Ultraschall-Laufzeitverfahren

Zur direkten Messung des portalvenösen und hepatoarteriellen Blutflusses wurde das Ultraschall-Laufzeitverfahren gewählt, welches seit 1983 eine etablierte, verifizierte, zuverlässige und reproduzierbare Methode zur Blutflussmessung darstellt (Lundell, 1993). Bei dem Ultraschall-Laufzeitverfahren werden Ultraschallwellen diagonal durch einen Strömungspfad gesendet und empfangen. Aus der Differenz der Laufzeiten wird die Fließgeschwindigkeit berechnet. Verglichen mit einer Dopplermessung arbeitet das Laufzeitverfahren wesentlich zuverlässiger und genauer.

In der Literatur wird einerseits beschrieben, dass die direkte Flussmessung in Ratten aufgrund der beengten anatomischen Verhältnisse schwierig ist (Brailon und Brody, 1988), andererseits stellt es aber ein sehr zuverlässiges und reproduzierbares Verfahren dar (Wen, 1996). So sind die in dieser Arbeit durch Ultraschallflussmessung bestimmten Blutflusswerte anderen Messverfahren, wie der radioaktiven Mikrosphären-Technik (Lee, 1986), der elektromagnetischen Blutflussmessung (Daemen, 1989) oder des Indocyaningrün-Clearance-Verfahrens (Pollak, 1990) überlegen. Das Ultraschall-Laufzeitverfahren bietet gegenüber anderen kontinuierlichen Blutflussmessverfahren Vorteile: dazu gehört vor allem die Unabhängigkeit vom elektrischen Umfeld, von der Umgebungsfeuchtigkeit, vom Gefäßdurchmesser, von der Dicke der Gefäßwand, vom umgebenden Gewebe; darüber hinaus ist es unabhängig vom Hämatokrit oder von Blutflussturbulenzen. Die Ultraschall-Flussmesssonden sind aufgrund ihrer kleinen Bauweise nach der Präparation der Gefäße

leicht plazierbar und bieten in einem weiten Bereich lineare Flusswerte (Cowan, 1988; Wen, 1996). Sie stellen derzeit die kleinsten erhältlichen Ultraschall-Flussmessköpfe für kontinuierliche Messungen dar.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

5.2.1. Mittlerer systemisch arterieller Blutdruck

MAP bei sham-operierten vs. leberteilresezierten Tieren:

Nach Durchführung einer Leberteilresektion änderte sich der systemisch arterielle Blutdruck im Vergleich zu den sham-operierten Tieren nicht, was einen Hinweis auf die schonende Methode der Leberresektion nach Higgins und Anderson (1931) lieferte.

In den Versuchsergebnissen war nach zunehmender Drosselung der Pfortader ein signifikanter Anstieg des mittleren systemisch arteriellen Blutdrucks beobachtet worden, sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren, der in beiden Gruppen ähnlich ausfiel. Durch die zunehmende Okklusion des mesenterialen Stromgebietes kam es zu einer Erhöhung der Nachlast des Herzens. Dieselbe Blutmenge musste durch ein geringeres Gefäßvolumen hindurch geleitet werden, was einen systemischen Druckanstieg bewirkte.

MAP nach L-Name Applikation:

L-Name bewirkte in sham-operierten und leberresezierten Tieren im Vergleich zu den Kontrollgruppen ohne L-Name einen signifikanten Blutdruckanstieg. Der Stickstoffmonoxidsynthase-Hemmer wurde zwar in die Leberarterie appliziert, schien jedoch eine systemische Wirkung zu haben. Die Zielenzyme iNOS (im Cytosol von glatten Muskelzellen, Myokard- und Epikardzellen) und eNOS (im Zytoplasma von Endothelzellen) wurden dabei durch L-Name in gesamten Tierkörper antagonisiert, dies wiederum hatte eine NO-Synthesehemmung und damit eine Vasokonstriktion und Blutdrucksteigerung zur Folge. Diese systemisch arterielle Blutdrucksteigerung ist im Einklang mit den Ergebnissen von Gustafsson et al (2005), die eine L-Name vermittelte systemisch arterielle Drucksteigerung und eine Verminderung der Leberdurchblutung in gesunden Ratten demonstrierten.

Unter L-Name war sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren bei portalvenöser Flussdrosselung ein Anstieg des systemisch arteriellen Blutdruckes festgestellt worden, entsprechend den Beobachtungen unter Ausgangsbedingungen ohne

Medikamentenapplikation. Auch hier liegt die Begründung in einer zunehmenden Okklusion des mesenterialen Stromgebietes, einer Verkleinerung des Gefäßvolumens und konsekutivem systemisch arteriellen Druckanstieg. Auch war der relative Druckanstieg unter L-Name ähnlich demjenigen bei Kontrolltieren. Ein Unterschied zwischen sham-operierten und leberteilresezierten Tieren hinsichtlich einer L-Name-Applikation konnte somit nicht dargestellt werden.

MAP nach Levosimendan Applikation:

Sowohl bei sham-operierten Tieren als auch nach Leberteilresektion konnte unter Levosimendan ein Anstieg des systemisch arteriellen Blutdruckes bei portalvenöser Flussdrosselung beobachtet werden. Hier gab es keinen Unterschied zu den Kontrolltieren ohne Medikamentenapplikation oder zu den Tieren, die einen Bolus L-Name erhalten haben.

Während bei sham-operierten Tieren nach einer Levosimendanapplikation keine Änderung des mittleren systemisch arteriellen Blutdrucks zu verzeichnen war, zeigte sich nach Leberresektion ein signifikanter Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks. Der Vasodilatator Levosimendan wurde in die Leberarterie injiziert und außerdem über einen Perfusor in die selbige appliziert. Die Reduktion des mittleren systemischen arteriellen Blutdrucks ist ein bekannter Effekt von Levosimendan (Cunha-Goncalves, 2009).

Erstaunlicherweise war der Blutdruckabfall nur bei den leberteilresezierten Tieren deutlich zu beobachten, während er bei den sham-operierten Tiere nicht zu verzeichnen war. Die genaue Ursache für die stärkere systemische Wirkung des Levosimendan bei leberteilresezierten Tieren kann nur spekuliert werden. Eine Vermutung ist, dass es sich aufgrund des kleineren Lebervolumens nach einer Leberresektion nach der intrahepatischen Applikation schneller systemisch verteilen konnte, und dass es daher zu einer stärkeren systemischen Wirkung kam. Da Levosimendan fast vollständig in der Leber metabolisiert wird und eine sehr kurze Halbwertszeit hat (Puttonen, 2008), kann daher bei sham-operierten Tieren eine systemische Wirkung ausbleiben, wenn es direkt in die Leberarterie appliziert wird.

5.2.2. Hämodynamik gesunder versus teilresezierter Leber während HABR

Die anteilmäßige Verteilung des Gesamtleberblutflusses auf die Pfortader und die Leberarterie von 70% zu 30% bei sham-operierten Tieren ist mit Angaben aus anderen Studien sowie den Daten bei Menschen vergleichbar (Lautt und Greenway, 1987).

Bei teilresezierten Lebern hingegen ist der Gesamtleberblutfluss auf ca. 245% des Ausgangsblutflusses signifikant erhöht, wobei sich das Verhältnis der hepatischen Blutversorgung signifikant zugunsten des portalvenösen Blutflusses auf 82 zu 18% verschiebt. Dies ist dadurch zu erklären, als dass ausgedehnte Parenchymresektionen an der Leber eine entsprechende Reduktion des mikrovaskulären Gefäßbettes bedingen, so dass sich hieraus ein höherer residualer portalvenöser Blutfluss pro Volumen- oder Gewichtseinheit verbliebener Leber ergibt, während der hepatoarterielle Blutfluss anteilmäßig abnimmt (im Absoluten aber trotzdem zunimmt), außerdem steigt der portalvenöse Druck signifikant an (Lee, 1987).

Es wird kontrovers über die genaue Wirkung der portalen Hyperperfusion auf die Leberregeneration diskutiert. Zum einen werden die portale Hypertension und die konsekutive portale Hyperperfusion als die ursächlichen positiven Einflüsse der Leberregeneration angeführt, als dass die vermehrte Perfusion über erhöhte Scherkräfte in den Gefäßen den Regenerationsprozess in Gang setzt (Sato, 1997; Niiya, 1999; Lai, 2000; Fan, 2002). Zum anderen wurde die portale Hypertension als potentiell schädigend für den Regenerationsprozess der Leber beschrieben (Panis, 1997; Asakura, 2003; Glanemann, 2005; Garcea, 2009). Portosystemische Shunts und Splenektomie führten dementsprechend in Studien zu einer höheren Überlebensrate nach ausgedehnter Leberresektion (Fukuchi, 2000; Glanemann, 2005). Andererseits zeigten viele Berichte pharmakologische Ansätze zum Schutz vor postoperativem Leberschaden bei portaler Hyperperfusion (Cai, 2000; Bustos, 2003; Palmes und Skawran, 2005; Yamanaka, 2011). Die Notwendigkeit von pharmakologischen Therapiemöglichkeiten zur Kontrolle von Scherspannungen nach ausgedehnter Leberresektion muss in Studien weiterhin untersucht werden.

In diesem Zusammenhang wurden der Leberarterie und der HABR bisher keine besondere Bedeutung beigemessen, obwohl der Leberarterie gerade bei pathophysiologischen Bedingungen, die mit einer Hypoxie einhergehen, eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung einer ausreichenden Gewebeoxygenierung zukommen kann (Rasmussen, 1999), weil die Sauerstofftransportkapazität der A. hepatica vier- bis sechsmal größer ist als die der Pfortader (Jakob, 2001). Dem unmittelbar an die Resektion anschließenden Zeitraum wurde ein kompletter Ausfall der HABR zugeschrieben, bedingt durch erhöhten portalvenösen Blutfluss (Lai, 2000). Diese vermeintlich „negative“ HABR ist immer noch nicht endgültig geklärt. Mehrere Studien zeigen einen signifikant verminderten hepatoarteriellen Blutfluss nach orthotoper Lebertransplantation mit verminderter

Leberparenchymmasse und konsekutiver portalvenöser Hyperperfusion (Lautt, 1990; Schoen, 2001; Smyrniotis, 2002; Sugimoto, 2007) Der verminderte hepatoarterielle Blutfluss wird in der Literatur als die Folge eines erhöhten Norepinephrin-Serumspiegels beschrieben, der direkt im Anschluss an eine Lebertransplantation beobachtet werden kann. Hickman et al. postulierten Norepinephrin als einen wichtigen, zur Reduktion des hepatoarteriellen Flusses beitragenden Mediator in Lebertransplantaten mit niedriger Lebermasse (Hickman, 1995). Demzufolge zeigten Kostapanagiotou et al. sechs bis achtfach erhöhte Norepinephrin-Serumkonzentrationen während beobachteter „negativer“ HABR nach Lebertransplantationen mit verminderter Leberparenchymmasse. Andererseits konnten nach Lebertransplantationen mit normalem Lebergewicht keine „negative“ HABR und normale Norepinephrin Serumkonzentrationen nachgewiesen werden (Kostapanagiotou, 2007). Eine geringe Leberparenchymmasse nach Lebertransplantation kann also mit verminderter Norepinephrin-Auswaschung und dementsprechend mit erhöhten Norepinephrin-Serumkonzentrationen und einhergehendem Transplantat-Versagen assoziiert sein. Demzufolge ist die hepatoarterielle Flussreduktion nach Lebertransplantationen mit geringer Leberparenchymmasse nicht die Folge von portalvenösem Hyperperfusion bedingtem Adenosin „wash-out“ Phänomen, sondern von beständig erhöhten Norepinephrin Serumkonzentrationen. In der folgenden Studie konnte das Aufkommen einer hepatoarteriellen Flussreduktion nach ausgedehnter Leberresektion nicht bestätigt werden. Im Gegensatz zu Lebertransplantationen mit verminderter Leberparenchymmasse scheint im postoperativen Zeitraum nach ausgedehnter Leberresektion der Serum Norepinephrin-Spiegel eine untergeordnete Rolle zu spielen. Dieser Unterschied im hepatoarteriellen Blutfluss nach Leberresektion verglichen mit Lebertransplantation mit geringer Restparenchymmasse könnte die Ursache für das unterschiedliche Outcome bei beiden Eingriffen sein: während im klinischen Alltag Leberresektionen mit Entfernung einer bis zu 80%igen Parenchymmasse gut toleriert werden, ist das Outcome nach Lebertransplantation bereits schlecht, wenn Transplantate von weniger als 50% der Lebermasse des Empfängers verwendet werden (Dahm, 2005).

In der vorliegenden Studie konnte ein signifikant erhöhter Gesamtleberblutfluss nach Leberresektion dargestellt werden, resultierend aus einer erhöhten portalvenösen Perfusion bei gegenüber Ausgangsbedingungen unveränderter hepatoarterieller Perfusion. Im Sinne der HABR wäre bei erhöhtem portalvenösem Blutfluss infolge der Leberresektion eine entsprechende Reduktion des hepatoarteriellen Blutflusses zu erwarten. Der die HABR vermittelnde Mechanismus entspricht dem Adenosin „wash-out“ System, wonach das „wash-

out“ bei geringem Pfortaderblutfluss entsprechend reduziert ist und eine höhere lokale Adenosinkonzentration zur Folge hat. Die Akkumulation des Adenosins bewirkt in der benachbarten hepatoarteriellen Gefäßwand eine Dilatation des Gefäßes mit entsprechend erhöhtem arteriellen Blutfluss. Der nach Leberresektion erhöhte portalvenöse Blutfluss dagegen bewirkt ein verstärktes „wash-out“ von Adenosin. Es ist eine Vasokonstriktion der benachbarten hepatoarteriellen Gefäßwand zu erwarten, mit entsprechend erniedrigtem arteriellen Blutfluss, also eine „negative“ HABR. Tatsächlich konnten Smyrniotis et al. einen erhöhten portalvenösen Blutfluss und einen reduzierten hepatoarteriellen Blutfluss bei "small-for-size" Transplantatlebern feststellen (Smyrniotis, 2002) In unserer Studie konnten wir dagegen zeigen, dass es durch die Zunahme des portalvenösen Blutflusses im verbliebenen Lebervolumen nicht zu einer Abnahme des hepatoarteriellen Blutflusses kommt: eine „negative“ HABR tritt hier nicht ein, vielmehr ist ein konstanter bis leicht erhöhter hepatoarterieller Blutfluss nach Leberresektion zu sehen. Dieses Phänomen des gleichbleibenden hepatoarteriellen Blutflusses nach Resektion wurde bereits von Dold et al. (2006) beschrieben und wird von unserer Studie bestätigt. Auch andere Autoren beschrieben das Fehlen einer „negativen“ HABR trotz portaler Hyperperfusion nach 40% partieller Leberresektion bei Hunden (Kameoka, 1996) und ausgedehnter Leberresektion bei Menschen (Sugimoto, 2007). Ein anderer Mechanismus scheint somit das Adenosin „wash-out“ System zu kompensieren, damit der „negativen“ HABR entgegenzusteuern und eine hepatoarterielle Flussteigerung zu bewirken.

Hypothesen, die den Ausfall der HABR als den ursächlichen, durch die Hyperperfusion verursachten Schaden ansehen (Demetris, 2006), können durch die Ergebnisse unserer Studie nicht bestätigt werden. Ebenfalls kann die vorliegende Studie die Ergebnisse von Smyrniotis et al. (2002) welche eine hepatoarterielle Flussreduktion bei erhöhtem portalvenösen Blutfluss beschrieben, nicht nachvollziehen.

Die stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses führte bei sham-operierten Tieren zu einer 192%igen und bei leberteilresezierten Tieren zu einer 165%igen Flussteigerung in der A. hepatica. Das Ausmaß des hepatoarteriellen Flussanstiegs bei maximaler Reduktion des portalvenösen Flusses (d.h. die relative hepatoarterielle Flusszunahme bei 0% portalvenösem Fluss) ist bei gesunden Lebern mit den Angaben anderer Studien an Katzen (Lautt, 1981), an Hunden (Mathie und Blumgart, 1983), an Schweinen (Ayuse, 1994) oder an Ratten (Rocheleau, 1999) vergleichbar. Das Potential der HABR ist nach Leberresektion in etwas geringerem Maße nachweisbar als bei sham-operierten Tieren. Dieses Ergebnis spricht

für ein wichtiges und besonders unter pathologischen Bedingungen ausgeprägtes Potential der HABR und steht im Einklang mit anderer Autoren, welche eine vorhandene HABR bei komplettem Ausfall der portalvenösen Perfusion beschrieben (Lautt, 1990; Rocheleau, 1999). Das Ergebnis einer aufrechterhaltenen HABR bei Leberresektion ist von großer Bedeutung für den Regenerationsprozess der Restleber nach Resektion, denn im Rahmen der Leberregeneration wird für eine ausreichende Leberfunktion und Zellintegrität ausreichend Sauerstoff für den gesteigerten, energieverbrauchenden Proliferationsstoffwechsel benötigt (Shimizu, 1999).

5.2.3. Hämodynamik gesunder versus teilresezierter Leber während HABR unter L-Name-Applikation

Die hepatoarterielle Applikation des NO-Synthase Hemmers N(G)-Nitro-L-Arginin-Methyl-Ester (L-Name) diente zur Überprüfung, inwieweit das Stickstoffmonoxid bei der Hämodynamik der HABR unter physiologischen Bedingungen sowie nach Leberteilresektion eine Rolle spielt. Im Falle einer Beteiligung Stickstoffmonoxids an der hepatischen Zirkulation würde durch L-Name die NO-vermittelte, d.h. vasodilatatorische Wirkung auf die Leberdurchblutung ausgeschaltet werden.

Nach einer Bolusinjektion des Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS)-Hemmers L-Name war die Gesamtleberdurchblutung bei sham-operierten Tieren im Gegensatz zu den Kontrollen ohne Medikamentenapplikation leicht erniedrigt, der portalvenöse Fluss war nach L-Name Gabe ebenfalls etwas niedriger. Der hepatoarterielle Fluss blieb aber gleich und das Verhältnis von portalvenösem zu hepatoarteriellem Anteil am Gesamtleberblutfluss war im Gegensatz zu den Kontrollen etwas zugunsten des hepatoarteriellen Flusses verschoben auf 67 zu 33%. Die erwartete L-Name-Wirkung als kompetitiver NO-Synthase Hemmer implizierte eine durch die verminderte NO-Konzentration verursachte Vasokonstriktion und damit verminderte hepatische Zirkulation. Diese erwartete Wirkung ist in sham-operierten Tieren nach L-Name Applikation nur andeutungsweise sichtbar. Der Gesamtleberblutfluss und der portalvenöse Blutfluss sind nur leicht vermindert, wohingegen der hepatoarterielle Fluss überhaupt keine Veränderung aufweist. Die leichte prozentuale Zunahme des hepatoarteriellen Anteils könnte auf eine basale Aktivierung der HABR aufgrund des reduzierten portalvenösen Blutflusses hindeuten.

Anders verhält es sich bei leberteilresezierten Tieren: Bei Betrachtung der Gesamtleberblutflüsse bei leberteilresezierten Tieren vor und nach L-Name Applikation, ist hier eine signifikante Flussabnahme feststellbar, sowohl im Gesamtleberblutfluss als auch im portalvenösen Fluss. Diesmal zeigt sich auch eine signifikante hepatoarterielle Flussreduktion. Die anteilmäßige Verteilung des Gesamtleberblutflusses auf die Pfortader und die Leberarterie ändert sich ebenfalls signifikant zugunsten der Pfortader auf 93% zu 7%. Bei leberteilresezierten Tieren scheint L-Name eine ausgeprägtere Wirkung aufzuweisen als bei sham-operierten Tieren. Die konsekutive Vasokonstriktion durch NO-Synthese Hemmung seitens L-Name und daraus resultierende Flussreduktion scheint nach Leberresektion deutlich stärker auszufallen. Diese Feststellung deckt sich mit den Erkenntnissen anderer Autoren, die eine Abnahme der hepatischen Zirkulation nach einer L-Name vermittelten NOS-Blockade durch Vasokonstriktion und konsekutiver Minderdurchblutung des Splanchnikusgewebes beschrieben (Cantré, 2008). Die prozentuale Umverteilung des Gesamtflusses zugunsten des portalvenösen Flusses deutet auf eine anteilmäßig stärkere Flussreduktion in der A. hepatica. Im hepatoarteriellen Schenkel scheint also die NO-Synthase eine besonders ausgeprägte Rolle zu spielen.

Nach stufenweiser portalvenöser Drosselung konnte unter L-Name Applikation sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren eine HABR ausgelöst werden, wobei es bei leberteilresezierten Tieren zu einem deutlich stärkeren relativen hepatoarteriellen Flussanstieg bei portalvenöser Drosselung kam (156% vs. 400% nach Leberresektion). Hier war das Kompensationspotenzial der HABR deutlich vergrößert. Letzteres spricht der Leberarterie eine für die Leberregeneration und Leberfunktion enorme Wichtigkeit zu.

Zur Darlegung der Rolle Stickstoffmonoxids bei der HABR nach Leberresektion wurden sham-operierte und leberteilresezierte Tiere gegenübergestellt. Bei stufenweiser Reduktion des portalen Blutflusses ohne Medikamentenapplikation konnte sowohl bei sham-operierten als auch bei leberteilresezierten Tieren eine HABR ausgelöst werden, die in beiden Fällen ähnlich ausfiel. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Dold et al (2006) publizierten Daten. Die nach einer Leberresektion einsetzende portale Hyperperfusion lässt eine konsekutive hepatoarterielle Flussreduktion erwarten. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen andere Autoren, die eine fehlende hepatoarterielle Flussabnahme nach portalvenöser Hyperperfusion beschrieben (Kameoka, 1996; Kostopanagiotou, 2007). Das Nicht-Eintreten einer „negativen“ HABR nach portalvenöser Flusszunahme konnte damit bestätigt werden.

Unter der Annahme, dass Stickstoffmonoxid eine entscheidende Rolle bei eben dieser ausbleibenden negativen HABR spielt, wurden sham-operierte und leberteilresezierte Tiere nach L-Name-Applikation gegenübergestellt. Es zeigte sich eine signifikante hepatoarterielle Flussreduktion in leberteilresezierten im Vergleich zu sham-operierten Tieren bei vollem portalvenösen Fluss. Der NO-Synthase Hemmer bewirkte eine Reduktion der vasodilatatorischen Wirkung Stickstoffmonoxids und damit eine Vasokonstriktion und konsekutive Flussabnahme in der A. hepatica. Die Erkenntnis dieser Versuchsreihe wird von anderen Beobachtungen unterstrichen, die eine hepatoarterielle Flussreduktion durch NOS-Blockade nach 85%iger Leberresektion beschrieben (Cantré, 2008).

Im Verlauf der portalvenösen Drosselung zeigten sich jedoch keine weiteren Signifikanten Flussreduktionen bei leberresezierten Tieren unter Applikation von L-Name mehr. Der arterielle Fluss bei leberresezierten Tieren blieb aber weiterhin tendenziell unter demjenigen der sham-operierten Tiere, näherte sich sogar zum Ende der Messung dem hepatoarteriellen Fluss der nicht hepatektomierten Tiere an. In beiden Gruppen waren bei komplettem Stillstand des portalvenösen Flusses wieder vergleichbare hepatoarterielle Flüsse zu verzeichnen. Diese Beobachtung kann man durch folgende Annahmen deuten: Zum einen kann eine Aufhebung der Wirkung von L-Name im Verlauf des Versuches vermutet werden. Die Medikamentenapplikation erfolgte lediglich durch einmalige Bolusgabe. Während der Messreihe erfolgte dann eine intrahepatische kontinuierliche Infusion von Ringer Lösung via Perfusor, was eine Verdünnung und Ausschwemmung des zuvor applizierten L-Name bedingen könnte. Dagegen spricht die Feststellung von Sander et al (1999), dass L-Name nach 1 bis 2 Stunden die stärkste Wirkung entfaltet.

Zum anderen wird durch die portalvenöse Drosselung das Adenosin-System durch verminderten „wash-out“ Mechanismus erneut induziert. Das Adenosin kumuliert durch stufenweise Erniedrigung des portalvenösen Flusses. Es kann erneut die hepatoarteriellen Adenosin-Rezeptoren besetzen und zu einer Vasodilatation und konsekutiven Flusszunahme führen. Da der relative hepatoarterielle Flussanstieg unter L-Name nach Leberresektion größer ist als diejenige bei sham-operierten Tieren, kann es durchaus sein, dass sich im Verlauf der Drosselung keine weiteren Signifikanzen zwischen den hepatoarteriellen Flüssen der leberresezierten und der sham-operierten Tiere zeigen, aufgrund einer stärkeren hepatoarteriellen Flusszunahme nach Leberresektion. Das Adenosin-System überwiegt schlussendlich das supprimierte NO-System und bedingt eine durch die einsetzende hepatoarterielle Vasodilatation vermittelte Flusszunahme. Das kann auch der Grund sein für

eine stärkere relative hepatoarterielle Blutflusszunahme nach Leberresektion unter L-Name (400%) als bei leberteilresezierten Tieren ohne L-Name Infusion (165%). Die durch NOS Hemmung verursachte hepatoarterielle Flussreduktion nach Leberresektion zog sehr niedrige anfängliche hepatoarterielle Flüsse mit sich. Die portalvenöse Flussdrosselung führte zu einer erneuten Adenosin vermittelten Vasodilatation und konsekutiven hepatoarteriellen Flusszunahme, so dass das gesamte Ausmaß der Flusszunahme deutlich höher war als ohne L-Name, mit normalen NO Spiegeln in der Ausgangssituation. Bei den sham-operierten Tieren konnte nach L-Name Applikation keine Zunahme des relativen hepatoarteriellen Flussanstieges im Vergleich zu den sham-operierten Tieren ohne L-Name beobachtet werden. Dies lässt vermuten, dass es ohne Leberresektion zu keiner vermehrten NO-Synthase Ausschüttung kommt, die das Substrat von L-Name darstellt, und es deswegen zu keiner hepatoarteriellen Vasokonstriktion und damit Flussreduktion kommen kann. Da so der Ausgangsfluss in der A. hepatica bei sham-operierten Tieren mit NOS Hemmung bereits höher ist, kann er durch die portalvenöse Drosselung nicht in dem Maße Ansteigen, wie es bei leberteilresezierten Tieren der Fall ist.

Letztendlich könnten hier auch andere Mechanismen eine Rolle spielen. Die Dysbalance zwischen vasodilatatorischen und vasokonstriktorischen Mechanismen wird als ein wichtiges pathogenes Merkmal in „small-for-size“ Lebern postuliert (Palmes, 2005). Ein wichtiger Mechanismus wird in unserer Arbeit als das NO-Synthase-System beschrieben. Der zugrunde liegende Mechanismus, der der negativen HABR entgegenwirkt, wurde hier als der des Stickstoffmonoxid-Systems identifiziert. Blockiert man die Synthese des Stickstoffmonoxids durch die Gabe eines NO-Synthase-Hemmers, so ist eben diese negative HABR wieder erkennbar: man sieht einen hepatoarteriellen Blutflussabfall nach Leberresektion und L-Name Applikation. Man kann also annehmen, dass nach ausgedehnter Leberresektion die negative HABR im Sinne einer hepatoarteriellen Flussreduktion während der portalen Hyperperfusion durch eine vermehrte iNOS- und eNOS-vermittelte intrahepatische NO Freisetzung kompensiert wird. Diese Daten demonstrieren eindrucksvoll die Abhängigkeit einer adäquaten Leberperfusion vom NOS-System. Studien zeigten eine verminderte NOS-Expression und NO-Freisetzung nach orthotoper Lebertransplantation (Smyrniotis, 2002). Diese verminderte NO-Ausschüttung könnte die Ursache sein dafür, dass „small-for-size“ Lebertransplantationen nur toleriert wurden, wenn mindestens 50% des Ausgangslebergewichtes transplantiert werden, wohingegen bei Resektionen bis zu 85% Leberparenchym entfernt werden können. Gleichwohl kann die reduzierte NO-Ausschüttung

nach Lebertransplantation die Tatsache erklären, dass die durch „small-for-size“ Lebertransplantation induzierte portale Hyperperfusion mit einer hepatoarteriellen Flussabnahme, im Sinne einer „negativen“ HABR, assoziiert ist. Ein Grund für die gestörte NO-Funktion könnte ein Substratmangel sein. Roth et al. konnten demonstrieren, dass hepatische Reperfusion einen Defizit an L-Arginin verursacht, durch die Ausschüttung großer Mengen an Arginase aus dem implantierten Gewebe. Folglich kann dieser L-Arginin-Abbau die NO-Synthese limitieren bei Patienten nach orthotoper Lebertransplantation (Roth, 1994). Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass Stickstoffmonoxid bei der hepatischen Flussregulierung im Sinne einer hepatoarteriellen Flussteigerung nach portalvenöser Hyperperfusion eine entscheidende Rolle zukommt. NO wird auch als ein wichtiger Mediator bei der hepatischen Regeneration und Zytoprotektion angesehen, da eine Substitution von NO die hepatische Zirkulation beeinflusst, Leberschaden vermindert und die Leberfunktion verbessert (Schoen, 2001; Cantré, 2008). Die Theorie, dass hepatische Hyperperfusion nach Leberresektion zu erhöhten sinusoidalen Scherkräften führt und in einem small-for-size Syndrom resultiert, wird von einigen Studien vertreten (Dahm, 2005; Glanemann, 2005; Demetris, 2006, Cantré, 2008). Studien, in denen eine chirurgische Verminderung des hepatischen Blutflusses zu einer Verbesserung des Outcomes nach Leberresektion führte (Lo, 2003; Troisi, 2005), beschreiben erhöhte sinusoidale Scherkräfte als die Hauptursache für einen Leberschaden bei „small-for-size“ Lebern. Im Gegensatz dazu werden in anderen Studien sinusoidale Scherkräfte als ein starker Trigger für eine frühe Leberregeneration beschrieben (Schoen, 2001; Schuett, 2007). Daher kann der positive Effekt des reduzierten Blutflusses und folglich der reduzierten Scherkräfte nach chirurgischer Manipulation auf Kosten der Kapazität der Leber zur Regeneration entstehen. Studien demonstrieren den Versuch eines Ausgleichs des Ungleichgewichtes zwischen vasodilatatorischen und vasokonstriktorisches Faktoren in „small-for-size“ Lebern durch Erhöhung der vasodilatatorischen Antwort durch Substitution von Stickstoffmonoxid (Cantré, 2008). 85% leberresezierte Tiere, die mit dem NO Donor Molsidomin behandelt wurden, wiesen weniger Leberschaden, eine höhere Leberregenerationsrate und verbesserte Leberfunktion auf, als Tieren ohne Molsidomin. Ähnliche Ergebnisse wurden bereits bei 70% leberresezierten Tieren veröffentlicht (Schoen, 2001), die auf regenerative und protektive Eigenschaften des Stickstoffmonoxids schließen lassen. Viele dieser Studien implizieren eine weitere Zunahme des Leberschadens durch NO-Blockade (Kumamoto, 2008). Andererseits kann NO auch als Mediator des Zelluntergangs fungieren, wenn es im Exzess produziert wird (Clemens, 1999).

Dementsprechend zeigen andere Studien eine signifikante Abnahme des Leberschadens durch L-Name vermittelte NO Blockade (Cantré, 2008). Diese widersprüchliche Wirkung Stickstoffmonoxids bleibt weiterhin eine umstrittene These. Das durch NOS produzierte NO kann unterschiedliche Effekte auf die Leber haben (Clemens, 1999; Chen, 2003). Führt die Substitution von Stickstoffmonoxid zu einer Wiederherstellung des hepatoarteriellen Flusses bis zu supranormalen Konditionen, so wäre die für die Regeneration wichtige Sauerstoffversorgung nach einer Leberresektion gesichert. Die Erhöhung der geweblichen Sauerstoffversorgung vor oder nach Leberresektion, sei es durch Arterialisierung der Pfortader oder durch hyperbare Oxygenierung, wurde bereits als eine potenzielle Strategie zur Unterstützung der Leberregeneration beschrieben (Shimizu, 2000; Tolentino, 2006). Studien schreiben einer Splenektomie bei Leberteilresektion ebenfalls eine positive Wirkung in Form von erhöhter Gewebeoxygenierung zu (Eipel, 2010). Daher ist die Fortführung der Untersuchungen bezüglich der Stickstoffmonoxid-vermittelten Wirkungen auf die Leberregeneration und bezüglich Methoden zur Erhöhung der Gewebeoxygenierung von enormer Wichtigkeit.

5.2.4. Hämodynamik gesunder versus teilresezierter Leber während HABR unter Levosimendan-Applikation

Die hepatoarterielle Applikation des Vasodilatators Levosimendan diente zur Überprüfung, inwieweit Kalium-Kanäle bei der Makrohämodynamik der HABR unter physiologischen Bedingungen sowie nach Leberteilresektion eine Rolle spielen. Durch Applikation von Levosimendan sollte die vasodilatatorische Wirkung der hepatischen Zirkulation durch die Öffnung von K-Kanälen verstärkt werden, um so eine eventuelle Zunahme der Leberdurchblutung zu bewirken. Die therapeutische Breite des Akutmedikaments für dekompensierte Herzinsuffizienz könnte dadurch vergrößert werden.

Bei Betrachtung der sham-operierten Gruppe, die einer Levosimendan Infusion unterzogen wurde, fällt der im Gegensatz zu den Kontrollen ohne Levosimendan leicht abgefallene Gesamtleberblutfluss auf, wobei die anteilmäßige Verteilung des Gesamtleberblutflusses auf die Pfortader und die Leberarterie von 70% zu 30% derjenigen der Kontrollen entspricht. Hier erkennt man demnach keinen Unterschied zwischen der Levosimendan- und der Kontrollgruppe. Bei Drosselung des portalvenösen Flusses fällt nach Levosimendan-Applikation eine signifikante Erniedrigung des portalvenösen Flusses auf im Vergleich zu den

Kontrolltieren, die lediglich eine intrahepatische Ringerlösung-Infusion erhalten haben. Diese Beobachtung entsprach dem Gegenteil der erwarteten Ergebnisse, denn die Levosimendan vermittelte Vasodilatation lässt eher an eine hepatische Flusszunahme denken. Weiterhin zeigte sich kein Unterschied im hepatoarteriellen Fluss nach Levosimendan Gabe. Die Levosimendan-vermittelte systemische Vasodilatation führte zu einer Minderdurchblutung des Splanchnikusgewebes und damit zu einer hepatischen Flussreduktion. Eine Verbesserung der Leberdurchblutung durch Levosimendan wurde in anderen Studien ebenfalls widerlegt (Cunha-Goncalves, 2009). Gegenteilige Ergebnisse zeigen jedoch eine Levosimendan-vermittelte Erhöhung des portalen Blutflusses (Pagel, 1996). Insgesamt sind noch wenige Studien bezüglich eines Levosimendan vermittelten Effektes auf die Leberperfusion bekannt. Ähnlich verhalten sich die Ergebnisse in der Gruppe der Leberresektion. Nach Levosimendan-Applikation lag der absolute Wert der Gesamtleberdurchblutung etwas unter dem der Kontrollgruppe mit Leberresektion, die anteilmäßige Verteilung des portalvenösen und hepatoarteriellen Blutflusses am Gesamtleberblutfluss aber blieb wie in der Kontrollgruppe bei 80 zu 20%. Eine gesteigerte Levosimendan vermittelte hepatische Perfusion konnte auch bei leberteilresezierten Tieren nicht gezeigt werden.

Die stufenweise Reduktion des portalvenösen Blutflusses unter Levosimendan bewirkte sowohl bei sham-operierten als auch bei leberresezierten Tieren eine ähnliche hepatoarterielle Flussteigerung im Sinne einer HABR von ca. 175% und 173%. Im Vergleich zu den Kontrollgruppen ohne Medikamentenapplikation waren einige Unterschiede auszumachen: Das Ausmaß der hepatoarteriellen Flussteigerung nach portalvenöser Drosselung lag bei sham-operierten Tieren ohne Levosimendan bei 192%. Die Levosimendan-Applikation schien diese bei sham-operierten Tieren also eher zum Negativen, also in Richtung einer Verminderung der hepatoarteriellen Antwort, zu beeinflussen. Bei leberresezierten Tieren ohne Medikament lag sie jedoch mit 165% unter derjenigen mit Levosimendan. Hier schien Levosimendan eine eher steigernde Wirkung der hepatoarteriellen Antwort auf die portale Flussdrosselung zu haben.

Im Verlauf der portalvenösen Drosselung hatte die Levosimendan-Applikation keinen Einfluss auf den portalvenösen Fluss von leberteilresezierten Tieren, wie es der Fall bei sham-operierten Tieren war. Das impliziert eine indirekte flussteigernde Wirkung von Levosimendan in leberteilresezierten Ratten.

Der Vergleich der hepatoarteriellen Flüsse in leberteilresezierten Ratten vor und nach Levosimendan-Applikation zeigt keinen flussteigernden Effekt; im Gegenteil ist bei 60%

portalvenösem Fluss sogar ein signifikanter Abfall des hepatoarteriellen Flusses nach Levosimendan Gabe festzustellen. Levosimendan als Vasodilatator lässt eine lokale Flussteigerung vermuten im Sinne einer K-Kanal Öffnung, welche eine Vasodilatation der hepatischen Gefäße und eine konsekutive Flussteigerung bedingt. Eine Flussszunahme konnte in der A. hepatica nicht nachgewiesen werden.

In der Gegenüberstellung der hepatoarteriellen Flüsse unter Levosimendanapplikation bei sham-operierten und leberteilresezierten Tieren war eine leichte arterielle Flusszunahme nach Levosimendan Gabe zu beobachten, wobei keine Signifikanzen ausgemacht werden konnten.

Die hepatoarterielle Perfusion und die HABR sind für die Regeneration der Leber nach ausgedehnter Resektion essentiell. Eine Erweiterung der relativen hepatoarteriellen Flusszunahme auf eine portalvenöse Flussdrosselung wäre ein entscheidender Schritt zur Unterstützung der Leberregeneration nach Leberresektion oder auch im Verlauf anderer bekannter Lebererkrankungen. In der vorliegenden Arbeit wurde eine vermeintliche Verstärkung der Vasodilatation durch den Inodilatator Levosimendan untersucht. Eine eindeutige, Levosimendan-vermittelte Steigerung des hepatischen Flusses durch eine Vasodilatation konnte in dieser Arbeit nicht gezeigt werden; es sind jedoch Tendenzen deutlich geworden, die auf eine gesteigerte HABR und auf angedeutete Levosimendan-vermittelte hepatoarterielle Flussteigerungen in resezierten Lebern hindeuten.

Das durch Calcium-Sensibilisierung als Inotropikum der neuen Generation eingesetzte Medikament Levosimendan wirkt vasodilatatorisch durch die Aktivierung Adenosintriphosphat-sensitiver Kaliumkanäle, durch Hemmung der Phosphodiesterase-III und durch Verminderung der Ca^{2+} -Sensitivität in der glatten Muskulatur. Pagel et al (1996) zeigten zum ersten Mal den vasodilatatorischen und blutflusssteigernden Effekt von Levosimendan an den Lebergefäßen von Hunden. Pataricza et al (2000) untersuchten die Wirkung von Levosimendan auf die isolierte menschliche Pfortader und beschrieben einen starken vasorelaxierenden Effekt, der durch den K-Kanal Blocker Glibenclamid komplett umkehrbar war. Yamanaka et al demonstrierten einen für die Leberregeneration nach Leberresektion fördernden Effekt eines anderen Phosphodiesterase III Hemmers (Olprinon) (Yamanaka, 2011): dieses bewirkte eine weitere Zunahme der eNOS Expression nach Leberresektion und dadurch höhere Überlebensraten. Phosphodiesterase-III-Hemmer wie Levosimendan könnten also zu einer Reduktion des durch die portale Hyperperfusion verursachten Leberschadens beitragen.

Diese Wirkung konnte in dieser Arbeit bei Ratten nicht eindeutig bestätigt werden. Nach Leberteilresektion konnte aber eine angedeutete Levosimendan-vermittelte hepatoarterielle Flussteigerung gezeigt werden. Man könnte einen "Steal-Effekt" des Vasodilatators vermuten, bei dem es durch eine systemische oder Splanchnikus-Dilatation zu einem Abfall des Druckes in den Lebergefäßen und damit auch zur Abnahme des Blutflusses käme. Die Tatsache, dass Levosimendan den Gefäßtonus in vielerlei Organsystemen senkt (Pagel, 1996), bekräftigt die Theorie des „Steal-Effektes“. Aufgrund seiner vasodilatierenden Wirkung scheint Levosimendan das Adenosin System der HABR zwar zu verstärken, diese wird hingegen durch den durch die Vasodilatation ausgelösten "Steal-Effekt" überwogen.

5.2.5. Histologie, Immunhistochemie und Western Blot

Die HE gefärbten Gewebeproben zeigten ähnliche, leicht bis mäßig ausgeprägte histologische Veränderungen, wie Vakuolisierung, Grobscholligkeit des Zytoplasmas oder Zellkerndeformation. Man kann von intakten und gleichsam wirkungsvollen Lebern bei sham-operierten und leberteilresezierten Tieren ausgehen. Von einer Beeinflussung der Ergebnisse aufgrund von Leberzellschaden kann daher absehen werden.

Da PCNA als Cofaktor der DNA-Polymerase in den Zellzyklus eingebunden ist, spielt seine Expression das Ausmaß der zellulären Proliferation verlässlich wieder. In dieser Studie wiesen sowohl sham-operierte als auch leberteilresezierte Tieren eine ähnlich geringe Proliferationsrate der Hepatozyten auf. Eine Zunahme der PCNA gefärbten Zellkerne ist in akut teilresezierten Lebern nicht zu erwarten. Anders ist es einige Tage nach Leberresektion. In der Literatur sind Angaben von 11-facher Zunahme der PCNA-exprimierenden Zellen am dritten Tag, vierfacher Zunahme am fünften Tag und zweifacher am achten Tag nach ausgedehnter Leberresektion (Abshagen, 2006) zu finden. Da PCNA eine wichtige Rolle bei der DNA Replikation, Reparatur, Zellzyklusregulation und post-replikativen Maßnahmen spielt, sprechen PCNA-positive Zellen für eine intakte Zellfunktion. Somit ist diese bei beiden Gruppen gewährleistet.

In dieser Studie konnte ein signifikanter Anstieg sowohl der iNOS ($1,59 \pm 0,41$ vs. $9,93 \pm 4,23$ ODxmm²) als auch der eNOS ($3,73 \pm 0,50$ vs. $7,99 \pm 1,14$ ODxmm²) im übriggebliebenen Lebergewebe nach einer 70%igen Hepatektomie demonstriert werden. Die nach einer ausgedehnten Leberresektion auftretenden Scherspannungen stimulieren die NO Synthase zur Produktion von Stickstoffmonoxid in den Endothelzellen Diese erhöhte NOS

Konzentration kann nach einer Leberresektion im verbliebenen Restlebergewebe gemessen werden. Andere Studien bestätigen diese Beobachtung: Hortelano et al demonstrierte eine gesteigerte NO Ausschüttung und eine erhöhte iNOS Expression nach partieller Leberresektion (Hortelano, 1995). Yamanaka et al. beschrieb eine weitere Zunahme der eNOS Expression nach Leberresektion durch den selektiven Phosphodiesterase III Inhibitor Olprinon, was zu einer Milderung des durch die portale Hyperperfusion verursachten Leberschadens führte. Dieser Effekt konnte durch L-Name komplett aufgehoben werden (Yamanaka, 2011). Gegenteilige Studien zeigen, dass eine Hemmung der NO-Synthase und konsekutiver Minderexpression von Stickstoffmonoxid zu einer Verminderung des durch Scherkräfte induzierten Leberschadens führt (Cantré, 2008). Schlussendlich bleibt die genaue Auswirkung der durch die portale Hyperperfusion bedingte erhöhte NOS-Expression eine noch nicht endgültig geklärte Frage.

6. Schlussfolgerung und Ausblick

Aus der vorliegenden Studie können folgende Schlüsse gezogen werden:

- 1) Nach ausgedehnter Leberresektion kann eine portale Hyperperfusion beobachtet werden, die jedoch nach der hepatic arterial buffer response (HABR)-Theorie nicht zu einer konsekutiven hepatoarteriellen Hypoperfusion führt; stattdessen ist ein gleichbleibend hoher hepatoarterieller Fluss zu beobachten.
- 2) Zu jedem Zeitpunkt nach einer partiellen Hepatektomie kann durch portalvenöse Flussdrosselung eine hepatoarterielle Flusserhöhung provoziert werden, somit scheint der HABR-Mechanismus komplett aufrecht erhalten zu sein.
- 3) Durch die Applikation des NO-Synthase Blockers L-Name bei leberteilresezierten Tieren kann eine auf die portale Hyperperfusion folgende hepatoarterielle Flusssenkung bewirkt werden. Es kann somit postuliert werden, dass die hepatoarterielle Flussreduktion während der portalen Hyperperfusion nach ausgedehnter Leberresektion durch eine vermehrte NOS-vermittelte intrahepatische NO Freisetzung kompensiert wird.
- 4) Nach einer Leberteilresektion zeigt die Quantifikation der Western-Blot-Untersuchungen einen signifikanten Anstieg sowohl der iNOS als auch der eNOS-Proteinexpression.
- 5) Die Applikation des Inodilators Levosimendan nach Leberteilresektion führt zu einer leichten, auf die portale Hyperperfusion folgenden, hepatoarteriellen Flussteigerung. Somit ist eine mögliche Bedeutung von ATP-sensitiven Kalium Kanälen für die HABR denkbar.

Der HABR kommt insofern eine große klinische Bedeutung zu, als dass durch die hepatoarterielle Blutflusszunahme eine konstante Sauerstoffversorgung aufrecht erhalten werden kann. Zum Schutz vor Hypoxie bei portalvenöser Hypoperfusion (perioperativ, im Rahmen einer traumatisch bedingten Blutung, bei Leberzirrhose) kann die HABR von Bedeutung sein. Andererseits kommt es nach Leberresektion oder nach Lebertransplantation zu portalvenöser Hyperperfusion, die im weiteren Verlauf zu einem sogenannten „small-for-size“ Syndrom führen kann; schwere Leberfunktionsstörungen oder Leberversagen sind die

Folge. In Debatten über die Ursachen des „small-for-size“ Syndroms wurde die portale Hyperperfusion mit hohen intravaskulären Scherspannungen angesprochen. Auch eine durch die portale Flusssteigerung bedingte hepatoarterielle Hypoperfusion mit insuffizienter Gewebeoxygenierung wurde als Ursachen in Betracht gezogen. Zusätzlich wurde ein Ungleichgewicht zwischen vasoaktiven Mediatoren in Lebern mit verringerter Parenchymmasse beobachtet, mit verringerter Expression von endothelialer NO-Synthase (eNOS). Studien weisen aber das Vorhandensein einer „negativen“ HABR in Form von hepatoarterieller Hypoperfusion als Ursache für das „small-for-size“ Syndrom zurück: Die insuffiziente Gewebeoxygenierung nach ausgedehnter Leberresektion ist nicht durch die Verschlechterung der mikrovaskulären Durchblutung bedingt, sondern durch einen relativen Hypermetabolismus. Der Mechanismus, der einen gleichbleibenden hepatoarteriellen Fluss nach ausgedehnter Leberresektion bedingt, wurde in dieser Arbeit als das NO-Synthase System identifiziert. Infolgedessen wird die „negative“ HABR im Sinne einer hepatoarteriellen Flussreduktion während der portalen Hyperperfusion nach ausgedehnter Leberresektion durch eine vermehrte NOS-vermittelte intrahepatische NO Freisetzung kompensiert. An diese Erkenntnis können diverse Therapiemöglichkeiten des „small-for-size“ Syndroms anknüpfen. Ob die Zuführung von Stickstoffmonoxid zu einer erhöhten Regenerationsrate und einem verminderten Leberschaden nach Leberresektion führt, bleibt eine noch genauer zu untersuchende Hypothese. Erste Studien beschreiben bereits die Bedeutung einer Stickstoffmonoxid-Substitution für eine ausreichende Gewebeoxygenierung und daher zur Unterstützung der Leberregeneration nach Leberresektion. Die HABR hat demnach eine wichtige Funktion in der Aufrechterhaltung der Integrität der Leberfunktion. Eine essentielle Aufgabe erlangt sie bei Störungen der Makrohämodynamik, wie zum Beispiel im Rahmen einer Leberresektion oder Lebertransplantation. Ein pharmakologisch denkbarer Ansatz wäre eine Verbesserung der Gewebeoxygenierung zur Unterstützung der Leberregeneration durch eine lokal erhöhte Stickstoffmonoxid-Konzentration zu erreichen.

7. Literaturverzeichnis

Abshagen K, Eipel C, Menger MD, Vollmar B. Comprehensive analysis of the regenerating mouse liver: an in vivo fluorescence microscopic and immunohistological study. *J Surg Res.* 2006; 134(2): 354-62

Amal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55(8-9): 1078-1087

Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74(8): 3203-3207

Asakura T, Ohkohchi N, Orii T, Koyamada N, Tsukamoto S, Sato M, Enomoto Y, Usuda M, Satomi S. Portal vein pressure is the key for successful liver transplantation of an extremely small graft in the pig model. *Transpl Int* 2003; 16: 376-382

Ayuse T, Brienza N, O'Donnell CP, Robotham JL. Pressure-flow analysis of portal vein and hepatic artery interactions in porcine liver. *Am J Physiol* 1994; 267:H1233-H1242

Ballet F. Hepatic circulation: potential for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther* 1990; 47: 281-328

Bauer M, Zhang JX, Bauer I, Clemens MG. ET-I induced alterations of the hepatic circulation: sinusoidal and extrasinusoidal sites of action. *Am J Physiol* 1994; 30: G143-G149

Bauer M, Rensing H, Bauer C, Bauer I, Larsen R. Organspezifisches Expressionsmuster eines Kohlenmonoxid-generierenden Stressproteins (Hämoxxygenase-I/Hitzeschockprotein 32) nach hämorrhagischem Schock. *Anästhesist* 1997; 46: 339-342

Bengmark S, Fredlund P, Göransson G, Olsson A, Vang J. Physiology of liver resection. *Zentralbl Chir.* 1973; 98(46):1642-1651

Boermeester MA, Houdijk AP, Straatsburg IH, van Noorden CJ, van Leeuwen PA. Organ blood flow after partial hepatectomy in rats: modification endotoxin-neutralizing bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI23). *J Hepatol.* 1999; 31(5): 905-12.

Bohl W, Elmendorf W. Technische Strömungslehre, Vogel Fachbuch Kamprath-Reihe, 14. überarbeitete Auflage, 2008. Kapitel 6: Strömungsmesstechnik; Seite 416-417.

Brailion A, Brody MJ. Continuous monitoring of portal vein and hepatic artery hemodynamics in unstrained rats. *Am J Physiol* 1988; 255: G194-G200

Bruch-Gerharz D, Schnorr O, Suschek C. Arginase 1 overexpression in psoriasis: limitation of inducible nitric oxide synthase activity as a molecular mechanism for keratinocyte hyperproliferation. *Am. J. Pathol.* 2003; 162(1): 203-211

Burton-Opitz R. The vascularity of the liver: the influence of the portal blood flow upon the flow in the hepatic artery. *Q J Exp Physiol* 1911; 4: 93-102

Bustos M, Beraza N, Lasarte JJ, Baixeras E, Alzuguren P, Bordet T, Prieto J. Protection against liver damage by cardiotrophin-1: a hepatocyte survival factor up-regulated in the regenerating liver in rats. *Gastroenterology.* 2003; 125(1): 192-201.

Cai SR, Motoyama K, Shen KJ, Kennedy SC, Flye MW, Ponder KP. Lovastatin decreases mortality and improves liver functions in fulminant hepatic failure from 90% partial hepatectomy in rats. *J Hepatol.* 2000; 32(1): 67-77

Cantré D, Schuett H, Hildebrandt A, Dold S, Menger MD, Vollmar B, Eipel C. Nitric oxide reduces organ injury and enhances regeneration of reduced-size livers by increasing hepatic arterial flow. *Br J Surg.* 2008; 95: 785-792

Carnovale CE, Scapini C, Alvarez ML. Nitric oxide and enhancement of lipid peroxidation in regenerating rat liver. *J Hepatol* 2000; 32: 798-804.

Chang TH, Hakamada K, Toyoki Y, Tsuchida S, Sasaki M. Expression of MRP2 and MRP3 during liver regeneration after 90% partial hepatectomy in rats. *Transplantation* 2004; 77: 22-27.

Chen T, Zamora R, Zuckerbraun B, Billiar TR. Role of nitric oxide in liver injury. *Curr Mol Med* 2003; 6: 519-526.

Clemens MG. Nitric oxide in liver injury. *Hepatology.* 1999; 30(1): 1-5

Couinaud C. Bases anatomiques des hépatéctomies gauche et droite réglées, techniques qui en déroule. *J Chir (Paris)* 1954; 70: 933-966

Cowan D, Stevens AL, Roberts VC. Design of continuous Doppler ultrasonic flowmeter for perivascular application. Part II: signal processing system. *Med Biol Eng Comput* 1988; 26: 153-160

Cunha-Goncalves D, Perez-de-Sa V, Grins E, Dahm PL, Thörne J, Blomquist S. Inotropic support during experimental endotoxemic shock: part I. The effects of levosimendan on splanchnic perfusion. *Anesth Analg.* 2009; 109(5): 1568-1575

Dahm F, Georgiev P, Clavien PA. Small-for-size syndrome after partial liver transplantation: definition, mechanisms of disease and clinical implications. *Am J Transplant* 2005; 5: 2605-2610

D'Amours M, Lebel M, Grose JH, Lairviere R. Renal and vascular effects of chronic nitric oxide synthase inhibition: involvement of endothelin 1 and angiotensin II. *Can J Physiol Pharmacol* 1999; 77(1): 8-16

Daemen MJAP, Thijssen HHW, van Essen H, Vervoort-Peters HTM, Prinzen FW, Struyker-Boudier HAJ, Smits JFM. Liver blood flow measurements in the rat. *Pharmacol Toxicol Methods* 1989; 21: 287-297

Demetris AJ, Kelly DM, Eghtesad B, Fontes P, Wallis Marsh J, Tom K et al. Pathophysiologic observations and histopathologic recognition of the portal hyperperfusion or small-for-size syndrome. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 986-993

De Rubertis FR, Craven PA. Calcium-independent modulation of cyclic GMP and activation of guanylate cyclase by nitrosamines. *Science* 1976; 193(4256): 897-899

De Witt BJ, Ibrahim IN, Bayer E, Fields AM, Richards TA, Banister RE, Kaye AD. An analysis of responses to levosimendan in the pulmonary vascular bed of the cat. *Anesth Analg* 2002; 94:1427-1433

Dixon RA, Kobilka BK, Strader DJ, Benovic JL, Dohlman HG, Frielle T, Bolanowski MA, Bennett CD, Rands E, Diehl RE, Mumford RA, Slater EE, Sigal IS, Caron MG, Lefkowitz

RJ, Strader CD. Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature*. 1986; 321(6065): 75-9

Dold S, Richter S, Schilling M, Menger M. Dissoziation der HABR («hepatic arterial buffer response») bei portaler Hyperperfusion nach partieller Leberresektion. *Chirurgisches Forum* 2006: Deutsche Gesellschaft für Chirurgie, 2006; 35(XIV): 259-261

Drummond GR, Cai H, Davis ME, Ramasamy S, Harrison DG. Transcriptional and posttranscriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by hydrogen peroxide. *Circ Res*. 2000; 86: 347-354

Edvinsson L, Owman C. Pharmacological characterization of adrenergic alpha and beta receptors mediating the vasomotor responses of cerebral arteries in vitro. *Circ Res*. 1974; 35(6): 835-49

Eipel C, Abshagen K, Ritter J, Cantré D, Menger MD, Vollmar B. Splenectomy improves survival by increasing arterial blood supply in a rat model of reduced-size liver. *Transpl Int*. 2010; 23(10): 998-1007

El Kasmi KC, Qualls JE, Pesce JT, et al. Toll-like receptor-induced arginase 1 in macrophages thwarts effective immunity against intracellular pathogens. *Nat. Immunol*. 2008; 9(12): 1399-406

Ezzat WR, Lutt W. Hepatic arterial pressure-flow autoregulation is adenosine mediated. *Am J Physiol*. 1987; 252(4 Pt 2): H836-45

Fan YD, Praet M, Van Huysse J, Lelie B, De Hemptinne B. Effects of portal vein arterialization on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat. *Liver Transpl* 2002; 8: 146-152

Fleming I, Busse R. NO: the primary EDRF. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 5-14

Franklin H, Epstein MB. The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *N Engl J Med* 1993; 2003-2011

Fredholm BB, Ijzerman AP, Jacobson KA, Klotz KN, Linden J. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors. *Pharmacol. Rev*. 2001; 53: 527-552

Fukuchi T, Hirose H, Onitsuka A, Hayashi M, Senga S, Imai N, Shibata M, Yamauchi K, Futamura N, Sumi Y. Effects of portal-systemic shunt following 90% partial hepatectomy in rats. *J Surg Res.* 2000; 89(2): 126-31

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376

Furchgott RF. A historical survey and prospects of research on EDRF. *Nippon Heikatsukin Gakkai Zasshi.* 1987; 23(6): 435-40

Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989; 3(9): 2007-2018

Furuta T, Ishikawa N, Shigei T. Regional variation in beta-adrenoceptor-mediated relaxation of canine veins. *Blood Vessels.* 1986; 23(4-5): 236-45

Garcea G, Maddern GJ. Liver failure after major hepatic resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2009; 16(2): 145-55

Garcia-Trevijano ER, Martinez-Chantar ML, Latasa MU, Mato JM, Avila MA. NO sensitizes rat hepatocytes to proliferation by modifying S-adenosylmethionine levels. *Gastroenterology* 2002; 122: 1355-1363.

Gelman S. General anesthesia and hepatic circulation. *Can J Physiol Pharmacol* 1987; 65: 1762-1779

Glanemann M, Eipel C, Nussler AK, Vollmar B, Neuhaus P. Hyperperfusion syndrome in small-for-size livers. *Eur Surg Res* 2005; 37: 335-341.

Green LC, Tannebaum SR, Goldman P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. *Science* 1981; 212: 56-58

Greenway CV, Stark RD. Hepatic vascular bed. *Physiol Rev.* 1971; 51: 23-64

Grisham MB, Granger DN, Lefer DJ. Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. *Free Radic Biol Med.* 1998; 25(4-5): 404-33

Gruhn N, Nielsen Kudsk JE, Theilgaard S, Bang L, Olesen SP, Aldershvile J. Coronary vasorelaxant effect of levosimendan, a new inodilator with calciumsensitizing properties. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 31:741-9

Gruetter CA, Barry BK, McNamara DB, Gruetter DY, Kadowitz PJ, Ignarro L. Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosoamine; *J Cyclic Nucleotide Res.* 1979; 5(3): 211-24

Gustafsson BI, Wallin M, Delbro DS, Friman S, Nitric oxide-mediated effects on liver blood flow. *Transplant Proc.* 2005; 37(8): 3338-9

Guimarães S, Moura D. Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacol Rev.* 2001; 53(2): 319-56

Hasenfuss G, Pieske B, Castell M et al. Influence of the novel inotropic agent levosimendan on isometric tension and calcium cycling in failing human myocardium. *Circulation.* 1998; 98(20): 2141-2147

Henriksen JH, Lassen NA. Pressure profile in liver sinusoids. A model of localization of sinusoidal resistance in the normal and cirrhotic liver. *Liver.* 1988; 8(2): 88-94

Hickman R, Stapleton GN, Mets B, Hlatshwayo S, Janicki P. Hepatic blood flow during reduced liver grafting in pigs. A comparison of controls and recipients of intact allografts. *Dig Dis Sci.* 1995; 40(6): 1246-51

Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* 1931; 12: 186-202

Hortelano S, Dewez B, Genaro AM, Díaz-Guerra MJ, Boscá L. Nitric oxide is released in regenerating liver after partial hepatectomy. *Hepatology.* 1995; 21(3): 776-86

Huet PM, Villeneuve JP, Pomier-Layrargues G, Marleau D. Hepatic circulation in cirrhosis. *Clin Gastroenterol.* 1985; 14(1): 155-68

Huie RE, Padmaja S. The reaction of NO with superoxide. *Free Rad Res Comm* 1993; 18: 195-199

Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, Gruetter CA. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther.* 1981; 218(3): 739-49

Jacobsen LC, Theilgaard-Mönch K, Christensen EI, Borregaard N. Arginase 1 is expressed in myelocytes/metamyelocytes and localized in gelatinase granules of human neutrophils. *Blood.* 2007; 109(7): 3084-7

Jakob SM, Tenhunen JJ, Laitinen S, Heino A, Alhava E, Takala J. Effects of systemic arterial hypoperfusion on splanchnic hemodynamics and hepatic arterial buffer response in pigs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G819-827

Kameoka N, Nimura Y, Sato T, Kato M, Yasui A, Kondo S. Postprandial responses of liver blood flow prior and following hepatectomy in conscious dogs. *J Surg Res.* 1996; 61(2): 437-43

Kawachi S, Ian N. Hines F, Laroux S, Hoffman J, Bharwani S, Gray L, Leffer D, Grisham MB. Nitric Oxide Synthase and Postischemic Liver Injury. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 276: 851-854

Kau, ST, Zografos P, Do ML, Halterman TJ, McConville MW, Yochim CL, Triverdi S, Howe BB, Li JH. Characterization of ATP-sensitive potassium channel-blocking activity of ZENECA ZM181,037, a eukalemic diuretic. *Pharmacology* 1994; 49(4): 238-248

Kinoshita G, Washizu M, Motoyoshi S, Breznock EM. Effects of hypovolemic shock and reperfusion on liver blood flow in the dog. *J Vet Med Sci.* 1995; 57(4): 703-8

Kock NG, Hahnloser P, Roding B, Schenk WG. Interaction between portal venous and hepatic arterial blood flow: an experimental study in the dog. *Surgery.* 1972; 72(3): 414-9

Kopustinskiene DM, Pollesello P, Saris NE. Potassium-specific effects of levosimendan on heart mitochondria. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 807-812

Kopustinskiene DM, Pollesello P, Saris NE. Levosimendan is a mitochondrial K(ATP) channel opener. *Eur J Pharmacol.* 2001; 428(3): 311-4.

Kostopanagiotou G, Pandazi A, Arkadopoulos N, Theodoraki K, Mystakidou K, Costopanagiotou C, Chondroudaki I, Smyrniotis V. Norepinephrine in Small-For-Size Liver Grafts: An Experimental Study in Pigs. *J Surg Res.* 2007; 141(2): 257-61

Kumamoto T, Togo S, Ishibe A, Morioka D, Watanabe K, Takahashi T, Shimizu T, Matsuo K, Kubota T, Tanaka K, Nagashima Y, Kawai J, Hayashizaki Y, Shimada H. Role of nitric oxide synthesized by nitric oxide synthase 2 in liver regeneration. *Liver Int.* 2008; 6: 865-77

Lassmann H. Mechanisms of neurodegeneration shared between multiple sclerosis and Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 2011 [Epub ahead of print]

Lautt WW. Hepatic vasculature: a conceptual review. *Gastroenterology* 1977; 73: 1163-1169

Lautt WW. Control of hepatic arterial blood flow: independence from liver metabolic activity. *Am J Physiol.* 1980; 239: H559-H564

Lautt WW. Role and control of the hepatic artery. *Hepatic circulation in health and disease.* Raven press 1981; 203-226

Lautt WW. Relationship between hepatic blood flow and overall metabolism: the hepatic arterial buffer response. *Fed Proc* 1983; 42: 1662-1666

Lautt WW. Mechanism and role of intrinsic regulation of hepatic arterial blood flow: hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol.* 1985; 249(5 Pt 1): G549-56

Lautt WW, Legare DJ. The use of 8-phenyltheophylline as a competitive antagonist of adenosine and an inhibitor of the intrinsic regulatory mechanism of the hepatic artery. *Can J Physiol Pharmacol* 1985; 63: 717-722

Lautt WW. Mechanism and role of intrinsic regulation of hepatic arterial blood flow: hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol.* 1985; 249: G549-556

Lautt WW, Greenway CV, Legare DJ, Weisman H. Localization of intrahepatic portal vascular resistance. *Am J Physiol.* 1986; 251: G375-G381

Lautt WW, Greenway CV. Conceptual review of the hepatic vascular bed. *Hepatology* 1987; 7: 952-963

Lautt WW, Legare DJ, Ezzat WR. Quantitation of the hepatic arterial buffer response to graded changes in portal blood flow. *Gastroenterology*. 1990; 98: 1024-1028

Lautt WW, Legare DJ. Passive autoregulation of portal venous pressure: distensible hepatic resistance. *Am J Physiol*. 1992; 263: G702-G708

Lautt WW. The 1995 Ciba-Geigy Award Lecture. Intrinsic regulation of hepatic blood flow. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74: 223-233

Leung TM, Fung ML, Liong EC, Lau TY, Nanji AA, Tipoe GL. Role of nitric oxide in the regulation of fibrogenic factors in experimental liver fibrosis in mice. *Histol Histopathol*. 2011; 26(2): 201-11

Lai OF, Chow PK, Tan S, Song IC, Soo KC, Aw SE, Yu WK, Fook-Chong SM, Satchithanatham S, Chan ST. Changes in prostaglandin and nitric oxide levels in the hyperdynamic circulation following liver resection. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 895-901

Lee SS, Girod C, Braillon A. Hemodynamic characterization of chronic bile-duct-ligated rats: effect of phenobarbital sodium. *Am J Physiol* 1986; 251: G176-G180

Lee SS, Hadengue A, Girod C, Braillon A, Lebrec D. Reduction of intrahepatic vascular space in the pathogenesis of portal hypertension. In vitro and in vivo studies in the rat. *Gastroenterology* 1987; 93: 157-161

Li J, Billiar TR. Nitric oxide. IV. Determinants of nitric oxide protection and toxicity in liver. *Am J Physiol* 1999; 276: G1069-G1073

Lo CM, Liu CL, Fan ST. Portal hyperperfusion injury as the cause of primary nonfunction in a small-for-size liver graft-successful treatment with splenic artery ligation. *Liver Transpl*. 2003; 9(6): 626-8

Lundell A, Bergqvist D, Mattsson E, Nilsson B. Technical note. Volume blood flow measurements with a transit-time flowmeter: an in vivo and in vitro variability and validation study. *Clin Physiol* 1993; 13: 547-557

Lupinacci R, Penna C, Nordlinger B. Hepatectomy for resectable colorectal cancer metastases-indicators of prognosis, definition of respectability, techniques and outcomes. *Surg Oncol Clin N Am* 2007; 16: 493-506

Macedo MP, Lantt WW. Shear-induced modulation of vasoconstriction in hepatic artery and portal vein by nitric oxide. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1998; 274: 253-260

Maines MD. The heme oxygenase system: A regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 517-554

Mall FP. A study of the structural unit of the liver. *Am J Anat.* 1906; 5: 227-308

Marcos A, Olzinski AT, Ham JM, Fisher RA, Posner MP. The interrelationship between portal and arterial blood flow after adult to adult living donor liver transplantation. *Transplantation.* 2000; 70(12):1697-703

Mathie RT, Ralevic V, Burnstock G. Portal vascular responsiveness to sympathetic stimulation and nitric oxide in cirrhotic rats. *J. Hepatol.* 1996; 25: 90-97

Mathie RT, Blumgart LH. The hepatic haemodynamic response to acute portal venous blood flow reduction in the dog. *Pflügers Arch* 1983; 399: 223-227

Mendlovic F, Corvera S, Garcia-Sainz J. A. Possible involvement of cyclooxygenase products is the action of platelet-activating factor and of lipooxygenase products is the vascular effects of epinephrine in perfused rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 123: 507-514

Michaels AD, McKeown B, Kostal M et al. Effects of intravenous levosimendan on human coronary vasomotor regulation, left ventricular wall stress, and myocardial oxygen uptake. *Circulation* 2005; 111: 1504-1509

Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66

Moore C, Sanz-Rosa D, Emerson M. Distinct role and location of the endothelial isoform of nitric oxide synthase in regulating platelet aggregation in males and females in vivo. *Eur J Pharmacol.* 2011; 651(1-3): 152-8

Morelli A, De Castro S, Teboul JL, Singer M, Rocco M, Conti G, De Luca L, Di Angelantonio E, Orecchioni A, Pandian NG, Pietropaoli P. Effects of levosimendan on systemic and regional hemodynamics in septic myocardial depression. *Intensive Care Med* 2005; 31:638-44

Morelli A, Teboul JL, Maggiore SM et al. Effects of levosimendan on right ventricular afterload in patients with acute respiratory distress syndrome: A pilot study. *Crit Care Med* 2006; 34(9): 2287-2293

Morley JE, Flood JF. Competitive antagonism of nitric oxide synthetase causes weight loss in mice. *Life Sci.* 1992; 51(16): 1285-9

Mücke I, Richter S, Menger MD, Vollmar B. Significance of hepatic arterial responsiveness for adequate tissue oxygenation upon portal vein occlusion in cirrhotic livers. *Int J Colorectal Dis* 2000; 15: 335-41

Mullin EJ, Metcalfe MS, Maddern GJ. How much liver resection is too much? *Am J Surg* 2005; 190: 87-97

Murad F, Mittal CK, Arnold WP, Katsuki S, Kimura H. Guanylate cyclase: activation by azide, nitro compounds, nitric oxide, and hydroxyl radical and inhibition by hemoglobin and myoglobin. *Adv Cyclic Nucleotide Res.* 1978; 9: 145-58

Nieminen MS, Akkila J, Hasenfuss G et al. Hemodynamic and neurohumoral effects of continuous infusion of levosimendan in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1903-1912

Niiya T, Murakami M, Aoki T, Murai N, Shimizu Y, Kusano M. Immediate increase of portal pressure, reflecting sinusoidal shear stress, induced liver regeneration after partial hepatectomy. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999; 6: 275-280

Oda M, Yokomori H, Han JY. Regulatory mechanisms of hepatic microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003; 29: 167-182

Oda M, Yokomori H, Han JY. Regulatory mechanisms of hepatic microcirculatory hemodynamics: hepatic arterial system. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006; 34: 11-26

O'Donnell SR, Wanstall JC. Responses to the beta 2-selective agonist procaterol of vascular and atrial preparations with different functional beta-adrenoceptor populations. *Br J Pharmacol.* 1985; 84(1): 227-35

Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC. Comparison of the effects of levosimendan, pimobendan, and milrinone on canine left ventricular-arterial coupling and mechanical efficiency. *Basic Res Cardiol* 1996; 91: 296-307

Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC. Influence of levosimendan, pimobendan, and milrinone on the regional distribution of cardiac output in anaesthetized dogs. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 609-615

Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987; 327(6122): 524-6

Palmes D, Minin E, Budny T, Uhlmann D, Armann B, Stratmann U, et al. The endothelin/nitric oxid balance determines small-for-size liver injury after reduced size rat liver transplantation. *Virchows Arch* 2005; 447: 731-741

Palmes D, Skawran S, Stratmann U, Armann B, Minin E, Herbst H, Spiegel HU. Amelioration of microcirculatory damage by an endothelin-A receptor antagonist in a rat model of reversible acute liver failure. *J Hepatol*. 2005; 42(3): 350-7

Panis Y, McMullan DM, Emond JC. Progressive necrosis after hepatectomy and the pathophysiology of liver failure after massive resection. *Surgery*. 1997; 121(2): 142-9

Pannen BH, Bauer M. Differential regulation of hepatic arterial and portal venous vascular resistance by nitric oxide and carbon monoxids in rats. *Life Sci* 1998; 62: 2025-2033

Papp Z, Csapo K, Pollesello P et al. Pharmacological mechanisms contributing to the clinical efficacy of levosimendan. *Cardiovasc Drug Rev* 2005; 23(1): 71-98

Pataricza J, Hohn J, Petri A, Balogh A, Papp JG. Comparison of the Vasorelaxing Effect of Cromakalim and the New Inodilator, Levosimendan, in Human Isolated Portal Vein. *J. Pharm. Pharmacol*. 2000; 52: 213-217

Pataricza J, Krassoi I, Hohn J, Kun A, Papp JG. Functional role of potassium channels in the vasodilating mechanism of levosimendan in porcine isolated coronary artery. *Cardiovasc Drugs Ther* 2003; 17:115-21

Perez-Guerrero C, Suarez J, Herrera MD, Marhuenda E. Vasodilating effect of tetrazepam in isolated vascular smooth muscles: comparison with cromakalim and diltiazem. *Pharmacol. Res.* 1997; 36: 237-242

Pollack GM, Brouwer KLAR, Demby KB, Jones JA. Determination of hepatic blood flow in the rat using sequential infusion of indocyanine green or galactose. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem* 1990; 18: 197-202

Puttonen J, Kantele S, Ruck A, Ramela M, Häkkinen S, Kivikko M, Pentikäinen PJ. Pharmacokinetics of intravenous Levosimendan and its metabolites in subjects with hepatic Impairment. *J Clin. Pharmacol.* 2008; 48: 445-454

Rai RM, Lee FY, Rosen A et al. Impaired liver regeneration in inducible nitric oxide synthase deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13829-34

Rappaport AM. The structural and functional unit in the human liver (liver acinus). *Anat Rec.* 1958; 130: 673-689

Rappaport AM. The microcirculatory hepatic unit. *Microvasc Res.* 1973; 6: 212-228

Rappaport AM. Microcirculatory units in the mammalian liver. Their arterial and portal components. *Bibl Anat.* 1977; 16: 116-120

Rasmussen A, Skak C, Kristensen M, Ott P, Kirkegaard P, Secher NH. Preserved arterial flow secures hepatic oxygenation during haemorrhage in the pig. *J Physiol* 1999; 516: 539-548

Rehberg S, Ertmer C, Van Aken H, Lange M, Bröking K, Morelli A, Westphal M. Rolle von Levosimendan in der intensivmedizinischen Behandlung des myokardialen Pumpversagens. *Der Anaesthesist.* 2006; 56(1): 30-43

Richter S, Mücke I, Menger MD, Vollmar B. Impact of intrinsic blood flow regulation in cirrhosis: maintenance of hepatic arterial buffer response. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000; 279(2): G454-62

Richter S, Olinger A, Hildebrandt U, Menger MD, Vollmar B. Loss of physiologic hepatic blood flow control ("hepatic arterial buffer response") during CO₂-pneumoperitoneum in the rat. *Anesth Analg.* 2001; 93(4): 872-7

- Richter S, Vollmar B, Mücke I, Post S, Menger MD. Hepatic arteriolo-portal venular shunting guarantees maintenance of nutritional microvascular supply in hepatic arterial buffer response of rat livers. *J Physiol.* 2001; 531(Pt 1): 193-201
- Rocheleau B, Ethier C, Houle R, Huet PM, Bilodeau M. Hepatic artery buffer response following left portal vein ligation: its role in liver tissue homeostasis. *Am J Physiol.* 1999; 277: G1000-1007
- Roth E, Steininger R, Winkler S, Längle F, Grünberger T, Függer R, Mühlbacher F. L-Arginine deficiency after liver transplantation as an effect of arginase efflux from the graft. Influence on nitric oxide metabolism. *Transplantation.* 1994; 57(5): 665-9
- Sander M, Chavoshan B, Victor RG. A large blood pressure-raising effect of nitric oxide synthase inhibition in humans. *Hypertension* 1999; 33: 937-942
- Sarady JK, Zuckerbraun BS, Bilban M, Wagner O, Ushewa A, Liu F, Ifidigbo E, Zamora R, Choi AM, Otterbein LE: Carbon monoxid protection against endotoxic shock involves reciprocal effects on iNOS in the lung and liver. *FASEB J.* 2004, 18 (7): 854-6
- Saur D, Vanderwinden JM, Seidler B, Schmid RM, De Laet MH, Allescher HD. Single-nucleotide promoter polymorphism alters transcription of neuronal nitric oxide synthase exon 1c in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 1662-1667
- Schiffrin EL, Touyz R. Vascular Biology of Endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32(3): 2-13
- Schiffrin EL. Endothelin: potential role in hypertension and and vascular hypertrophy. *Hypertension* 1995; 25: 1135-1143
- Schindl MJ, Redhead DN, Fearon KC, Garden OJ, Wigmore SJ. The value of residual liver volume as a predictor of hepatic dysfunction and infection after major liver resection. *Gut* 2005; 54: 289-296
- Schoen JM, Wang HH, Minuk GY, Lautt WW. Shear stress induced nitric oxide release triggers the liver regeneration cascade. *Nitric Oxide* 2001; 5(5): 453-64.

Schoen JM, Lauth WW. iNOS is not involved in shear stress-induced nitric oxide release, which triggers the liver regeneration cascade. *Proc West Pharmacol Soc* 2001; 44: 181-182

Schuett H, Eipel C, Maletzki C, Menger MD, Vollmar B. NO counterbalances HO-1 overexpression-induced acceleration of hepatocyte proliferation in mice. *Lab Invest.* 2007; 87(6): 602-12

Schulz R, Nava E, Moncada S. Induction and potential biological relevance of a Ca²⁺-independent nitric oxide synthase in the myocardium. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 575-580

Schwarte LA, Picker O, Bornstein SR, Fournell A, Scheeren TW. Levosimendan is superior to milrinone and dobutamine in selectively increasing microvascular gastric mucosal oxygenation in dogs. *Crit Care Med* 2005; 33: 135-42

Seyde WC, McGowan L, Lund N, Duling B, Longnecker DE. Effects of anaesthetics on regional hemodynamics in normovolemic and hemorrhaged rats. *Am J Physiol* 1985; 249: H164-H173

Shimizu H, Miyazaki M, Yoshioka S, Ito H, Nakagawa K, Ambiru S, Yoshidome H, Kusashio K, Nakajima N, Fukuda Y. Changes in hepatic venous oxygen saturation related to the extent of regeneration after partial hepatectomy in rats. *Am J Surg* 1999; 178: 428-431

Shimizu Y, Miyazaki M, Shimizu H, Ito H, Nakagawa K, Ambiru S, Yoshidome H, Nakajima N. Beneficial effects of arterialization of the portal vein on extended hepatectomy. *Br J Surg.* 2000; 87(6): 784-9

Siewert JR, Prof. Dr.: *Chirurgie*; Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2006; 8. Auflage: S 672

Siragy HM, Johns RA, Peach MJ, Carey RM. Nitric oxide alters renal function and guanosine 3',5'-cyclic monophosphate. *Hypertension* 1992; 19(6 PT 2): 775-779

Slawsky MT, Colucci WS, Gottlieb SS et al. Acute hemodynamic and clinical effects of levosimendan in patients with severe heart failure. *Circulation* 2000; 102: 2222-2227

Smyrniotis V, Kostopanagiotou G, Kondi A, Gamaletsos E, Theodoraki K, Kehagias D et al. Hemodynamic interaction between portal vein and hepatic artery flow in small-for-size split liver transplantation. *Transpl Int* 2002; 15: 355-360

Suematsu M, Wakabayashi Y, Ishimura Y. Gaseous monoxides: a new class of microvascular regulator in the liver. *Cardiovascular research* 1996; 32: 679-686

Sugimoto H, Hirota M, Kure S, Kanazumi N, Nomoto S, Inoue S, Takeda S, Kiuchi T, Nakao A. Normal hepatic hemodynamics during early postoperative period in recipients with adult live donor liver transplantation. *Transplant Proc.* 2007; 39(1): 160-5

Tolentino EC, Castro e Silva O, Zucoloto S, Souza ME, Gomes MC, Sankarankutty AK, Oliveira GR, Feres O. Effect of hyperbaric oxygen on liver regeneration in a rat model. *Transplant Proc.* 2006; 38(6): 1947-52

Toller WG, Stranz C. Levosimendan, a New Inotropic and Vasodilator Agent. *Anesthesiology.* 2006; 104(3): 556-69

Transonic Systems Inc, 2008; URL: www.transonic.com

Troisi R, Ricciardi S, Smeets P, Petrovic M, Van Maele G, Colle I, Van Vlierberghe H, de Hemptinne B. Effects of hemi-portocaval shunts for inflow modulation on the outcome of small-for-size grafts in living donor liver transplantation. *Am J Transplant.* 2005; 5(6): 1397-404

Ukkonen H, Saraste M, Akkila J et al. Myocardial efficiency during levosimendan infusion in congestive heart failure. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68(5): 522-531

Vauthey JN, Zorzi D, Pawlik TM. Making unresectable hepatic colorectal metastases resectable – does it work? *Semin Oncol* 2005; 32(9): 118-122

Vollmar B, Menger MD. The hepatic microcirculation: Mechanistic Contributions and Therapeutic Targets in Liver Injury and Repair. *Physiol Rev* 2009; 89: 1269-1339

Vollmar B, Menger MD, Glasz J, Leiderer R, Messmer K. Impact of leukocyte-endothelial interaction in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1994; 267:G786-G793

Vos TA, Gouw AS, Klok PA, Havinga R, van Goor H, Huitema S et al. Differential effects of nitric oxide synthase inhibitors on endotoxin-induced liver damage in rats. *Gastroenterology* 1997; 113: 1323-1333

Waldman SA, Murad F. Biochemical mechanism underlying vascular smooth muscle relaxation: the guanylate cyclase-cyclic GMP system. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988; 12(5): 115-118

Wang YX, Poon CI, Pang CV. Vascular Pharmacodynamics of N-Nitro-L-Arginine Methyl Ester in Vitro and in Vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 267(3): 1091-1099

Wen C, Li M, Whitworth JA. Validation of transonic small animal flowmeter for measurement of cardiac output and regional blood flow in the rat. *Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: 482-486

Wissenmedia GmbH Gütersloh/München, 2009; URL: www.wissenmedia.de

Yamanaka K, Hatano E, Narita M, Kitamura K, Yanagida A, Asechi H, Nagata H, Taura K, Nitta T, Uemoto S. Olprinone attenuates excessive shear stress through up-regulation of endothelial nitric oxide synthase in a rat excessive hepatectomy model. *Liver Transpl.* 2011; 17(1): 60-9

Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui J, Yasaki Y, Goto K, Maski T. A novel potent vasokonstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-415

Yokoshiki H, Sperelakis N. Vasodilating mechanisms of levosimendan. *Cardiovasc Drugs Ther* 2003; 17:111-3

Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperelakis N. Levosimendan, a novel Ca²⁺ sensitizer, activates the glibenclamide-sensitive K⁺ channel in rat arterial myocytes. *Eur J Pharmacol* 1997; 333: 249-259

Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperelakis N. The vasodilator levosimendan hyperpolarizes and activates a glibenclamide-sensitive potassium channel in vascular smooth muscle cells. *Eur. J. Pharmacol.* 1996; 333: 249-259

Zentrale Für Unterrichtsmedien im Internet e.V. (ZUM Internet e.V.). URL: www.zum.de

Zeini M, Hortelano S, Traves PG et al. Assessment of a dual regulatory role for NO in liver regeneration after partial hepatectomy: protection against apoptosis and retardation of hepatocyte proliferation. *FASEB J* 2005; 19: 995-7

Zhou DY, Du Q, Li RR, Huang M, Zhang Q, Wei GZ. Grape Seed Proanthocyanidin Extract Attenuates Airway Inflammation and Hyperresponsiveness in a Murine Model of Asthma by Downregulating Inducible Nitric Oxide Synthase. *Planta Med.* 2011 [Epub ahead of print]

8. Abkürzungsverzeichnis

A. / Aa.	Arteria / Arteriae
A. mes. sup.	Arteria mesenterica superior
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
Ca ²⁺	Calcium
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
cGMP	zyklisches Guanosin- 3`5`-Monophosphat
CO	Kohlenmonoxid
EDRF	endothelium-derived relaxing factor
ET-1, ET-2, ET-3	Endothelin Isoform 1, 2 und 3
ETA und ETB	Endothelin -Rezeptor Typ A und Typ B
GTP	Guanosintriphosphat
HABR	hepatic arterial buffer response
HO-2, HO-1	Hämoxygenase 1 und 2
HSP 32	heat shock protein 32 (= Hämoxygenase 1)
HZV	Herzzeitvolumen
K ⁺	Kalium
K ⁺ _{ATP} -Kanäle	Adenosintriphosphat- (ATP-)sensitive K ⁺ -Kanäle
L-NAME	N (G)-Nitro-L-Arginin Methyl Ester
LV	linksventrikulär
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
nNOS, iNOS, eNOS, cNOS	neuronale, induzierbare, endotheliale, konstitutive Stickstoffmonoxid-Synthase
(PDE)-III-Inhibitoren	Phosphodiesterase-III-Inhibitoren
PAF	Platelet-Activating factor
Tr. coel.	Truncus coeliacus
V. / Vv.	Vena / Venae
vs.	versus

9. Publikationen

Originalarbeiten

Dold S, Jüngling L, Kollmar O, Sperling J, Schuld J, Schilling MK, Menger MD, Richter S. Major hepatectomy does not affect hepatic arterial buffer response upon portal flow reduction. Journal of Surgical Research 2011 [submitted]

Kongressbeiträge

Dold S, Jüngling L, Richter S, Laschke MW, Schilling MK, Menger MD. Eine vermehrte hepatische NO-Freisetzung kompensiert die „hepatic arterial buffer response“ (HABR) nach ausgedehnter Leberresektion. Kongress der deutschen Gesellschaft für Chirurgie, München (2009)

10. Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Bei der Auswahl des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Bei der Anfertigung und Auswertung des Materials haben mir die nachstehend aufgeführten Personen in der jeweils beschriebenen Weise unentgeltlich geholfen:

- ❖ Die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Institutes für Klinisch-Experimentelle Chirurgie führten die Western Blot Analyse, die H/E Färbung und die Immunhistochemische Analyse durch.
- ❖ Die Auswertung der Western Blot Analyse, der H/E- und PCNA-Färbung erfolgte mit Hilfe von Stefan Dold (Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes, 66424 Homburg/Saar)

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater/innen oder anderer Personen) in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit den Inhalten dieser Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form in einem anderen Verfahren zur Erlangung des Doktorgrades einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die Wahrheit gesagt und nichts verschwiegen habe.

Vor Aufnahme der vorstehenden Versicherung an Eides Statt wurde ich über die Bedeutung einer eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung belehrt.

St Wendel, den 12.07.2011

Lilia Jüngling

11. Danksagung

Mein allerherzlichster Dank gilt in besonderem Maße all denen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, insbesondere:

- ❖ Professor Dr. med. Dr. h. c. Martin K. Schilling (Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes) für die freundliche Überlassung dieses interessanten Themas.
- ❖ Professor Dr. med. Michael D. Menger (Institut für Klinisch-Experimentelle Chirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes) für die Hilfsbereitschaft bei der Vertiefung in das Thema.
- ❖ PD Dr. med. Sven Richter (Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes) für die gute Zusammenarbeit, die konstruktive Kritik und die vielen wertvollen Anregungen.
- ❖ Stefan Dold (Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie, Universitätsklinikum des Saarlandes) für die tatkräftige und sehr nette Betreuung, geduldige Einweisung in das Thema und in die chirurgische Präparation der Versuchstiere.
- ❖ den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Klinisch-Experimentelle Chirurgie, die mir stets Freundlichkeit und Hilfsbereitschaft entgegenbrachten.
- ❖ meiner Familie und meinem Partner für die liebevolle Unterstützung bei dieser Arbeit und der gesamten ärztlichen Ausbildung.

12. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name, Vorname: Jüngling ,Lilia
Geburtsdatum: 30.09.1982
Geburtsort: Majli-Saj, Kirgisistan
Familienstand: ledig

Schulische Ausbildung

1990-1993 Antonius Grundschule, Georgsmarienhütte, Holzhausen
1993-1995 Orientierungsstufe, Alt Georgsmarienhütte
1995-2002 Gymnasium, Georgsmarienhütte Oesede; Erwerb der allgemeinen Hochschulreife Juni 2002; Abschluss: Abitur, Note 1,9

Medizinstudium

2002-2004 Medizinstudium an der Universität des Saarlandes, Universitätsklinikum, Homburg Saar
10.09.2004 Erfolgreiche Absolvierung des 1. Abschnitts der Ärztlichen Prüfung in Homburg
2004-2005 Auslandsstudium in Valladolid, Spanien
2005-2009 Fortsetzung des Medizinstudiums an der Universität des Saarlandes, Universitätsklinikum, Homburg Saar
19. Mai 2009 Erfolgreiche Absolvierung des 2. Abschnitts der Ärztlichen Prüfung an der Universität des Saarlandes in Homburg, Abschluss des Medizinstudiums

Famulaturen

08/2005 (4 Wochen) Marienhospital Osnabrück - Klinik für Innere Medizin, Gastroenterologie, Diabetologie
07/2006 (4 Wochen) Klinikum St. Georg; Franziskushospital Georgsmarienhütte - Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe

03/2007 (4 Wochen) Universidad de Malaga, España; Hospital Clinico Universitario Virgen de la Victoria - Klinik für Allgemeine Chirurgie

09/2007 (4 Wochen) Universitätsklinikum des Saarlandes - Klinik für Hals- Nasen- und Ohren-Heilkunde

Praktisches Jahr

25.02.2008-20.04.2008 Universitätsklinikum des Saarlandes - Klinik für Innere Medizin II, Gastroenterologie, Hepatologie, Endokrinologie, Diabetologie
(8 Wochen)

21.04.2008-15.06.2008 Universitätsklinikum des Saarlandes -Klinik für Innere Medizin I, Onkologie, Hämatologie, Klinische Immunologie und Rheumatologie
(8 Wochen)

16.06.2008-05.10.2008 University of KwaZulu Natal, Durban, South Africa - King Edward VIII Hospital - Department of General Surgery
(16 Wochen)

06.10.2008-30.11.2008 University of KwaZulu Natal, Durban, South Africa - Inkosi Albert Luthuli Central Hospital - Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery
(8 Wochen)

01.12.2008-25.01.2008 Universitätsklinikum des Saarlandes - Klinik für Hals- Nasen- und Ohren-Heilkunde
(8 Wochen)

Berufstätigkeit

seit 01.11.2009 Assistenzärztin im Marienkrankenhaus St Wendel, Saarland, Klinik für Allgemein- und Visceralchirurgie (Chefarzt: Dr. Uwe Kröninger; Ärztlicher Direktor: Dr. Hans Jürgen Schönenberger)