

---

**Aus der Universitätsklinik für Allgemeine, Viszeral - und  
Transplantationschirurgie Tübingen  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. A. Königsrainer**

**Big-ET, ET und NO im Rahmen der experimentellen  
Lebertransplantation  
am Schweinemodell**

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

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

**vorgelegt von  
Matthias Dettmer  
aus  
Tübingen**

**2006**

---

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. R. Viebahn

2. Berichterstatter: Professor Dr. K. Unertl

---

*Meinen Eltern gewidmet, die mich in allen meinen Zielen unterstützen.*

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>7</b>
1.1	Blutdruckregulation und vasoaktive Substanzen .....	7
1.1.1	Körperkreislauf.....	7
1.1.2	Organperfusion.....	7
1.1.3	Mikrozirkulation.....	8
1.1.4	Vasokonstringierende Substanzen.....	8
1.1.5	Vasodilatative Substanzen .....	9
1.2	Volumensubstitution bei Lebertransplantation .....	9
1.2.1	Hydroxyethylstärke (HES) und Hyperhydroxyethylstärke (HHES).....	10
1.2.2	Diaspirin Crosslinked Hemoglobin (DCLHb™) .....	11
1.3	Big-Endothelin, Endothelin .....	13
1.3.1	Struktur, Vorkommen .....	13
1.3.2	Bildung und Umwandlung von Big-ET und ET .....	14
1.3.3	Endothelin Rezeptoren.....	15
1.3.4	Zelluläre Wirkungsmechanismen der Endothelin-induzierten Vasokonstriktion .....	16
1.3.5	Wirkungen auf den Blutdruck und den peripheren Blutfluss .....	17
1.3.6	Wirkungen auf die Leber und deren Mikrozirkulation bei Lebertransplantation.....	17
1.4	Stickstoffmonoxid (NO).....	20
1.4.1	Struktur und Entdeckung .....	20
1.4.2	Produktion.....	21
1.4.3	Physiologie.....	21
1.4.4	Wirkungen auf die Leber und deren Mikrozirkulation bei Lebertransplantation.....	22
1.5	Fragestellung.....	23
<b>2</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>24</b>
2.1	Material.....	24
2.1.1	Versuchstiere.....	24
2.1.2	Zusammensetzung der Prüflösungen.....	24
2.2	Versuchsdurchführung und Messanordnung .....	25
2.2.1	Narkose .....	25

2.2.2	Präparation des Spendertieres .....	26
2.2.3	Präparation des Empfängertieres .....	27
2.2.4	Messzeitpunkte .....	29
2.3	Durchführung der Enzymimmunoassays für Big-ET / ET .....	29
2.3.1	Testprinzip eines Sandwich-ELISA .....	29
2.3.2	Big-ET-ELISA und ET-ELISA .....	30
2.4	NO-Bestimmung .....	31
2.4.1	Testprinzip .....	31
2.4.2	Testdurchführung .....	32
2.5	Statistische Methoden .....	32
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>34</b>
3.1	Intraoperativer Verlauf der Plasmakonzentrationen von Big-ET, ET und NO ..	34
3.1.1	Verlauf der Plasmakonzentration von Big-ET .....	34
3.1.2	Verlauf der Plasmakonzentration von ET .....	35
3.1.3	Verlauf der Plasmakonzentration von NO .....	36
3.2	Calcium .....	37
3.2.1	Intraoperative Calciumkonzentration und Plasmakonzentration von Big-ET .....	38
3.2.2	Intraoperative Calciumkonzentration und Plasmakonzentration von ET ...	39
3.3	Korrelation von Big-ET / ET mit der Hämodynamik .....	40
3.3.1	Herzzeitvolumen (HZV) .....	40
3.3.2	Herzfrequenz (HF) .....	42
3.3.3	Wedge-Druck (PCWP) .....	43
3.3.4	Zentraler Venendruck (ZVD) .....	44
3.4	Korrelation von NO mit der Hämodynamik .....	45
3.4.1	Mittlerer Pulmonalarteriendruck (MPAP) .....	46
3.4.2	Wedge-Druck (PCWP) .....	47
3.5	Reperfusionsschaden und die Plasmakonzentration von Big-ET / ET .....	48
3.5.1	Transaminasen .....	48
3.5.1.1	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Big-ET .....	49
3.5.1.2	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und ET .....	49
3.5.1.3	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und Big-ET .....	50

3.5.1.4	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und ET.....	51
3.5.2	$\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT).....	52
3.5.2.1	$\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT) und Big-ET .....	52
3.5.2.2	$\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT) und ET .....	53
3.5.3	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) .....	54
3.5.3.1	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) und Big-ET .....	55
3.5.3.2	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) und ET .....	56
3.6	Reperfusionsschaden und NO.....	57
3.6.1	Transaminasen.....	57
3.6.1.1	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und NO.....	57
3.6.1.2	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und NO.....	58
3.6.2	$\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT) und NO .....	59
3.6.3	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) und NO .....	60
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>62</b>
4.1	Mediatoren und Reperfusionlösungen .....	62
4.1.1	Big-ET und ET .....	62
4.1.2	Stickstoffmonoxid (NO) .....	64
4.2	Mediatoren und Physiologie .....	65
4.2.1	Calcium .....	65
4.2.2	Hämodynamik .....	65
4.2.3	Reperfusionsschaden .....	68
4.2.4	Reperfusionsschaden und NO .....	71
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>73</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>75</b>

## 1 Einleitung

Die Reperfusionphase stellt bei der orthotopen Lebertransplantation (OLT) auch heute noch einen der Schlüssel für eine erfolgreiche Operation dar. Unmittelbar nach Anschluß der implantierten Leber an den Kreislauf gerät der Patient in eine hämodynamische Instabilität. Dabei spielt Endothelin (ET) und Stickstoffmonoxid (NO) eine wichtige Rolle. Durch den Einsatz moderner Infusionslösungen wie Hyperhydroxyethylstärke (HHES) oder Diaspirin Crosslinked Hemoglobin (DCLHb™) versucht man diese kritische Phase besser kontrollieren zu können. Um die hierbei ablaufenden Mechanismen genauer zu verstehen, wurde die vorliegende Arbeit durchgeführt.

### 1.1 *Blutdruckregulation und vasoaktive Substanzen*

#### 1.1.1 Körperkreislauf

Die exakte Regulation des Blutdrucks ist für jeden höher organisierten Organismus von grosser Bedeutung. Als Stellglieder im Kreislaufsystem können zum einen das Herzzeitvolumen und zum anderen der periphere Widerstand verändert werden. Die Medulla oblongata sowie benachbarte Zentren in Hirnstamm und Hypothalamus passen die Kreislafsituation an die allgemeine vegetative Reaktionslage des Organismus an. Neben diesen Einflussgrössen ist das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System sowie eine Vielzahl anderer vasokonstringierender und vasodilatierender Faktoren besonders im Bereich der Mikrozirkulation von grosser Bedeutung (155).

#### 1.1.2 Organperfusion

Organe wie das Gehirn oder die Koronararterien und besonders die Vasa afferentia der Niere sind zu einer myogenen Autoregulation befähigt. Diese können bei Blutdruckerhöhung mit einer Vasokonstriktion und bei Blutdruckabfall mit einer

Vasodilatation reagieren, um eine konstante Organperfusion zu gewährleisten (155,160,195,234).

### 1.1.3 Mikrozirkulation

Das Gefäßendothel ist ein im Organismus ubiquitäres Organ. Beim Menschen hat es eine Gesamtoberfläche von ungefähr 400 m<sup>2</sup> und wiegt dabei etwa 1,5-2 kg (247).

Neben der sogenannten Makrozirkulation mit ihren großen Gefäßen, spielt die Mikrozirkulation eine entscheidende Rolle. Diese Funktionseinheit wird durch Kapillaren mit ihren vor- und nachgeschalteten Blutgefäßen gebildet und durch Substanzen beeinflusst, die sowohl am Zellstoffwechsel beteiligt sind, als auch vom Endothel gebildet werden, wie z.B. Endothelin (ET), Stickstoffmonoxid (NO) oder die Prostaglandine (229). Alle beteiligten Mediatoren stehen miteinander in einem komplexen Gleichgewicht um so eine optimale Versorgung der Zellverbände zu gewährleisten.

### 1.1.4 Vasokonstringierende Substanzen

Neben Katecholaminen in Interaktion mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren führen andere Stoffe wie ADH, Angiotensin II, Serotonin oder auch eine erhöhte intrazelluläre Ca<sup>2+</sup>-Konzentration zu einer Vasokonstriktion. Thromboxan A<sub>2</sub> ist ein Prostaglandin, welches zusätzlich noch eine Plättchenaggregation hervorruft (155,216). Auch das Endothel selbst ist in der Lage, unter noradrenerger oder thrombinerger Stimulation sowie bei Hypoxie oder mechanischem Streß und unter dem Einfluß anderer Faktoren wie TGF- $\beta$  zahlreiche vasokonstringierende Stoffe, beispielsweise Endothelin-1, zu sezernieren (84,133,229).

### 1.1.5 Vasodilatative Substanzen

Eine Vasodilatation wird im allgemeinen durch einen Anstieg des CO<sub>2</sub>-Partialdruckes, stärkeres Absinken des O<sub>2</sub>-Partialdruckes, aber auch durch einen Abfall des PH-Wertes sowie eine Erhöhung der Adenosinmonophosphat-, Adenosindihosphat-, Adenosin- und Kaliumionen-Konzentration bewirkt. Auch die Gewebshormone Histamin und Bradykinin, sowie das Prostaglandin Prostazyklin, welches zusätzlich noch eine Hemmung der Plättchenaggregation bewirkt, führen zu einer Vasodilatation (155).

Zu den dilatativen Substanzen gehört weiterhin das EDRF (*Endothelium Derived Relaxing Faktor*). Es wird vom Endothel gebildet, ist identisch mit NO und führt neben einer Vasodilatation auch zu einer Plättchenaggregationshemmung (155,229).

## 1.2 Volumensubstitution bei Lebertransplantation

Die Reperfusionphase stellt einen kritischen Moment im Verlauf der orthotoper Lebertransplantation (OLT) dar. Es kann dabei zu einer kardiovaskulären Instabilität kommen. Diese wird durch ET, welches sich im Spenderorgan während der kalten Ischämie ansammelt, mitbeeinflusst (143). Der Volumenersatz muß rasch und in ausreichender Menge solange unter kontinuierlicher Kontrolle der Herz-Kreislauf-Funktion und der metabolischen Parameter erfolgen, bis systolische Blutdruckwerte von mehr als 100 mmHg bzw. arterielle Mitteldruckwerte um 80 mmHg sowie ein normaler Venendruck erreicht sind (122).

Kristalloide wie bilanzierte Elektrolytlösungen oder 0,9 % NaCl-Lösung können zum Ersatz mäßiger Blutverluste infundiert werden. Sie haben den Nachteil, daß sie bei Blutverlusten im Verhältnis 1:4 infundiert werden müssen, d.h., ein Blutverlust von 500 ml muß durch 2000 ml Kristalloide ersetzt werden. Kolloide sind hochmolekulare Substanzen, die vor allem als Plasmaersatzmittel zum Ausgleich intravasaler Volumenverluste dienen. Es wird unterschieden zwischen körpereigenen Kolloiden wie Humanalbumin, Plasmaproteinlösung, gefrorenem Frischplasma (GFP) und künstlichen Kolloiden wie Hydroxyethylstärke (Amylopectin), Dextranen (Glucopolysaccharid) und Gelatine-Präparationen (Polypeptid-polymerisat).

Vollblut und Blutkomponenten, zu denen die körpereigenen Kolloide und Erythrozytenkonzentrate zählen, sind weitere Optionen (39,121,122).

In der vorliegenden Arbeit kamen mit Hyperhydroxyethylstärke (HHES) und Diaspirin Crosslinked Hemoglobin (DCLHB™) zwei neue Infusionslösungen zur Anwendung.

### 1.2.1 Hydroxyethylstärke (HES) und Hyperhydroxyethylstärke (HHES)

Die intravenöse Verwendung einer stark hypertonen Kochsalzlösung mobilisiert zusätzliches Volumen für die Zirkulation. Dies wird als „small volume resuscitation“ bezeichnet. Substanzen, die diese Fähigkeit besitzen werden Plasmaexpander genannt. Sie sind besonders geeignet zur Behandlung sowohl des absoluten als auch des relativen Volumenmangels bei peripherem Kreislaufversagen (39). So muß man, um den gleichen Effekt mit HES zu erzielen etwa zehnmal mehr Volumen einsetzen als mit HHES (243). Wichtiger Bestandteil dieser modernen Lösungen ist das Kolloid. Ohne diesen Zusatz zu hypertoner Kochsalzlösung ist der Blutdruckanstieg und der verbesserte Blutfluss zu so wichtigen Organen wie Nieren und Leber nur von kurzer Dauer (181,182,220). Mit Kolloiden ist die kardiovaskuläre Wirkung deutlich verlängert und die Mikrozirkulation verbessert (182).

Neben der bereits erwähnten Expansion des Plasmavolumens (140) hat diese Form der Therapie noch weitere günstige Effekte. Durch die hypertone Lösung kommt es innerhalb der glatten Gefäßmuskulatur zu einer Relaxation und in deren Folge zu einer Vasodilatation (132). Damit ist ein Abfall des Gesamtwiderstandes und ein Anstieg der Nieren- und Eingeweidedurchblutung verbunden (9). Eine vorübergehende Hämodilution und ein anhaltender Anstieg der Plasmaosmolarität und der Na<sup>+</sup>-Konzentration im Plasma reduziert die Endothelzellschwellung und verhindert die ansteigende Viskosität des Blutes (9,140,141). Dabei ist die Reduktion der Endothelzellschwellung an der Stelle der stärksten Schwellung am ausgeprägtesten. Dies führt zu einer Abnahme des hydraulischen Widerstandes innerhalb der Kapillaren und somit zu einer verbesserten Gewebepfusion (140).

Die Wiederherstellung der Vasomotion und das Öffnen kleiner, verschlossener Kapillaren kann mit herkömmlichen Infusionslösungen nicht erreicht werden. Hier ist die Therapie mit hyperton-hyperonkotischen Lösungen überlegen (146).

Intrahepatisch beugt die Anwendung einer hyperton-hyperonkotischen HES-Lösung einem schockinduzierten Versagen der sinusoidalen Perfusion durch Wiederherstellung der Flussgeschwindigkeit der Leukozyten innerhalb der Lebersinusoide und der postsinusoidalen Venen vor. Somit wird die hepatische Mikrozirkulation entscheidend verbessert und eine durch Reperfusion induzierte Leukozytenstase/adhärenz verhindert (242).

### 1.2.2 Diaspirin Crosslinked Hemoglobin (DCLHb™)

Die massive Infusion von gelagertem Konservenblut weist eine ganze Reihe von Nachteilen wie transfusionsassoziierte Infektionen, Möglichkeit der bakteriellen Verunreinigung, Inkompatibilität mit immunologischen Konsequenzen sowie Verschlechterung der Sauerstoffabgabe und der Fliesseigenschaften des Blutes auf. Infolgedessen ist eine Bluttransfusion mit einer ganz erheblichen Morbidität und Mortalität verbunden. Daher erfordert die Gabe von Blut und Blutbestandteilen eine sehr strenge Indikation. Sie ist gegeben, wenn sich die Gewebeoxygenierung nur durch Zufuhr von Sauerstoffträgern verbessern lässt (145).

Diese Transfusionsrisiken bestehen bei DCLHb™ definitiv nicht. Es handelt sich um eine stromafreie, chemisch modifizierte humane Hämoglobinlösung mit sauerstofftransportierenden Eigenschaften. Im DCLHb™-Komplex sind die vier Untereinheiten des Hämoglobins stabilisiert. Dies wird durch die Reaktion von Hämoglobin mit bis-(3,5-dibromosalicyl)fumarat (DBBF) erreicht. Hierdurch kommt es zu einer Vernetzung der beiden  $\alpha$ -Ketten des Hämoglobinmoleküls (20). Daraus entstehen zwei Vorteile. Zum einen steigt dosis- und speziesabhängig die Halbwertszeit des Moleküls von ca. 90 Minuten auf 3-24 Stunden und zum anderen erhält man mit normalem Blut vergleichbare Sauerstoffbindungseigenschaften (204). Eine 50 %ige Sauerstoffsättigung wird bei 29 mmHg erreicht (159,221,238), verglichen mit nur 12 mmHg bei unmodifiziertem HbA (159,221,238). Das lässt auf eine deutlich verbesserte Sauerstoffabgabe im Gewebe schließen. Bei schwerer Hämorrhagie hat sich DCLHb™ im Tiermodell bereits bewährt (60) und war ebenso erfolgreich wie der Einsatz einer Vollblutkonserve (135). Die Gewebeoxygenierung kann sogar dann noch

aufrechterhalten werden, wenn der Hämatokrit eigentlich bereits schon als kritisch einzustufen ist (144).

Die Verstoffwechslung von DCLHb™ ist ein langandauernder Prozess und benötigt bei Ratten ca. zwei Wochen (98). Bei Menschen, die allerdings eine wesentlich kleinere Dosis erhielten, war die Halbwertszeit (HWZ) mit 2,5-3,3 h deutlich geringer (183).

DCLHb™ ruft konzentrationsabhängig einen Blutdruckanstieg hervor (7,209). Dieser Effekt wird durch das Binden von NO an DCLHb™ vermittelt (65,209). Es konnte gezeigt werden, daß die systemischen wie regionalen hämodynamischen Veränderungen, welche DCLHb™ hervorruft durch L-Arginin (eine NO-Vorstufe) abgeschwächt werden können, so daß man davon ausgehen muß, daß das NO-System zumindest teilweise in die kardiovaskulären Effekte von DCLHb™ verwickelt ist (204,209). Desweiteren sind steigende Endothelin-Plasmaspiegel an der beobachteten Vasokonstriktion beteiligt (123,202,204). Im Szenario einer Hämorrhagie geht man davon aus, daß die positiven Effekte von DCLHb™ hauptsächlich durch ET und nicht durch die Blockierung des NO-Systems verursacht werden (57). Es wird davon ausgegangen, daß diese eben genannten positiven Effekte aber vermutlich nicht durch einen Anstieg der Konversion von Big-ET-1 zu ET-1 bedingt sind (59).

Im Gegensatz zu Katecholaminen, welche einen vergleichbaren Blutdruckanstieg jedoch mit einer schlechteren Organperfusion zur Folge haben, wird die Flussgeschwindigkeit der Erythrozyten (114) und der Blutfluss zu den einzelnen Organsystemen (7,58,59,114,179,183,208) gesteigert. Ein signifikanter Anstieg des Gefäßwiderstandes des muskuloskelettalen Systems und der Leber ist dosisunabhängig (7). Konzentrationsabhängig ist die signifikante Verbesserung des venösen Rückstromes zum Herzen und dessen Auswurfleistung durch DCLHb™ (7,57,58,208). Eine Veränderung der Herzfrequenz konnte nicht beobachtet werden (7,58,59,209).

In einer Phase-I-Studie konnte keine Organtoxizität nachgewiesen werden (183). Ebenso wenig ließ sich eine Immunogenität aufzeigen (173). Schwer kranken Patienten im septischem Schock wurde durch DCLHb™ zu einer effektiven Blutdrucksteigerung verholfen (101,189).

In einer großen Multicenterstudie stellte man kürzlich, trotz der positiven Ergebnisse aus den vorangegangenen Tierversuchen und der Phase-I-Studie, eine höhere Mortalität bei Patienten fest, die DCLHb™ erhielten und an einem schweren traumatischen Schock

litten. Es ist aber noch keinesfalls sicher, ob die höhere Mortalität tatsächlich auf die Behandlung mit DCLHb™ oder auf andere Faktoren zurückzuführen ist (219).

### **1.3 Big-Endothelin, Endothelin**

#### 1.3.1 Struktur, Vorkommen

Endothelin ist ein aus 21 Aminosäuren aufgebautes Peptid. Es wurde 1988 von Yanagisawa et. al. erstmals beschrieben und ist der stärkste derzeit bekannte Vasokonstriktor (254). Im menschlichen Genom gibt es drei verschiedene Endothelin-Subtypen, ET-1, ET-2 und ET-3 (84), die unterschiedlich starke vasokonstriktorische Potenz besitzen. Diese ist bei ET-1 am stärksten und beim ET-3 am schwächsten ausgeprägt, wie man in Versuchen in vitro an Schweinekoronarien und in vivo an narkotisierten Ratten zeigen konnte (244). Je hydrophober das Endothelinmolekül ist, desto stärker ist seine vasokonstriktorische Potenz (84).

Endothelin kann in einer Vielzahl von Geweben gefunden werden. Hohe Konzentrationen werden im Endokard und im Respirationstrakt gemessen. Die Medulla der Niere enthält etwa dreimal so viel ET wie der Kortex (70). Die höchsten Konzentrationen an ET allerdings wurden in Blutgefässen gefunden, wobei die Konzentration in Venen höher ist als in Arterien (70).

Die Plasmakonzentrationen von ET-1 ist bei zahlreichen Krankheitsbildern, wie kardiovaskulären Erkrankungen, inklusive akutem Herzinfarkt oder kardiogenem Schock sowie nach grossen operativen Eingriffen, wie Transplantationen oder Leberresektionen aber auch bei Leberzirrhose erhöht (47,54,66,86,92,128,166,235).

Sarafotoxine S6 gehören zu einer Gruppe von Peptid-Toxinen, die aus dem Gift einer in Israel heimischen Schlange, der sog. Südlichen Erdotter (*Atractaspis engaddensis*, Familie der Vipern) isoliert werden konnte (226). Neben der gleichen Länge der beiden Peptidketten (4), haben Sarafotoxine S6 eine bemerkenswerte strukturelle Ähnlichkeit zu den Endothelinen, einschliesslich zweier Disulfidbrücken und der essentiellen Aminosäure Tryptophan am C-terminalen Molekülende (4,70,105,229). Das Schlangengift verursacht eine so starke Kontraktion der Koronarien, dass die Bissopfer

hierdurch getötet werden (124). Analog verursachen auch die Endotheline einen starken Koronarspasmus. Diese strukturelle und funktionelle Ähnlichkeit lässt auf einen gemeinsamen evolutionären Ursprung schließen (4,118,229).

### 1.3.2 Bildung und Umwandlung von Big-ET und ET

Endothelin-1 wird hauptsächlich von Endothelzellen gebildet (21). Dieses Peptid ist beim Menschen und beim Schwein identisch (137,254).

Einige ältere Arbeiten deuten darauf hin, dass sich bei Endothelzellen die Gen-Expression (108) und Freisetzung von Endothelin durch Hypoxie induzieren lässt (72,108,186). Eine neuere Untersuchung zeigt jedoch das Gegenteil. Oxidativer Stress unterdrückte in dieser Versuchsanordnung die ET-1-Sekretion. Dieser Kompensationsmechanismus der Endothelzelle, welcher Vasokonstriktion und Zellproliferation unter ET-1-Einfluss bei oxidativem Stress verhindert, ist sinnvoll im Hinblick auf eine bedarfsgerechte Oxygenierung (197). So scheint die endogene ET-1-Produktion den basalen Tonus der menschlichen Gefäße zu regulieren (68).

Durch Scherkräfte wird die Bildung von ET-1 und ECE-1 (Endothelin-Converting-Enzyme-1) kurzfristig verringert (138). Ein solcher andauernder Streß über einen längeren Zeitraum hinweg hebt jedoch die ET-1-Produktion wieder um das drei- bis vierfache an ohne dabei die Bildung von ECE-1 zu beeinflussen (64).

Die Endothelinproduktion erfolgt in drei Schritten und wird hauptsächlich auf mRNA-Ebene gesteuert (52,100,254). Die Endotheline werden als grosse Präproendotheline von den Endothelzellen synthetisiert (254). Menschliches Präproendothelin-1 hat eine Länge von 212 Aminosäuren (84). Es wird durch eine Signalpeptidase in Proendothelin umgewandelt (100). Proendothelin wird anschließend vom C-terminalen und vom N-terminalen Ende her durch Furin-ähnliche Konvertasen modifiziert (100). Dabei entsteht Big-Endothelin mit einer Länge von 38 Aminosäuren (247), welches ungefähr 140 mal schwächer bezüglich seiner pharmakologischen Wirkung als ET ist (102). In Folge einer weiteren Modifikation durch das Endothelin-converting-enzyme (ECE), eine membrangebundene Metalloproteinase (139), entsteht Endothelin (24,167). Kommt es nicht zur Konversion, bleibt die volle vasokonstriktorische Aktivität aus (102,152,156).

Da das ECE-1 eine zentrale Rolle bei der Regulation der ET-1-Konzentration spielt, ist seine Expression in der ersten Phase nach einer Transplantation erhöht (230).

Zur Umwandlung des zelleigenen ET-1 findet sich ECE-1 nicht nur auf der Oberfläche (6), sondern auch im Golgi-Apparat der Endothelzelle. Das membrangebundene ECE-1 ist in der Lage, Big-ET-1, welches von aussen an die Zelle gelangt, zu konvertieren (10,255). ET-1 kann somit intrazellulär und extrazellulär gebildet werden (11,194,255). Im zirkulierenden Blut kommt es ebenfalls zur Umwandlung von Big-ET-1 in ET-1, auch wenn dies quantitativ nur eine untergeordnete Rolle spielt (245). Dies konnte beispielsweise in den Koronarien nachgewiesen werden (176).

Endothelin-converting-enzyme-1 reagiert sensibel auf Phosphoramidon (24,25). Wird an der P1-Position von Big-ET-1 ein Aminosäurerest verändert sowie die C-Terminale Region umgebaut, so erhält man einen effektiven ECE-1-Inhibitor (227).

Eine intravenöse Verabreichung von Big-ET-1 ruft einen Anstieg des mittleren arteriellen Druckes und des peripheren Widerstandes hervor. Das Schlagvolumen und das Herzminutenvolumen sinken rasch ab, wobei die Herzfrequenz unverändert bleibt. Der Blutfluss zu Herz, Gehirn, Nieren, Portalsystem und Gastrointestinaltrakt steigt an. Diese Effekte können durch Phosphoramidon, einem ECE-1-Antagonisten abgemildert werden (59). Erste erfolgreiche Versuche, einen Reperfusionsschaden durch solche Antagonisten zu verringern, fanden bereits statt (251).

### 1.3.3 Endothelin Rezeptoren

Das hydrophile Endothelin ist nicht in der Lage, die Zellmembran zu passieren. Es muss sich daher an spezifische Rezeptoren binden, welche die Zellantwort auslösen. Die Existenz unterschiedlicher Isoformen des Endothelins legte die Vermutung nahe, dass es auch verschiedene Isoformen des Rezeptors gibt. In der Tat wurden zwei G-Proteingekoppelte Rezeptoren mit sieben transmembranären Domänen identifiziert (5,82,150,247). Diese sind nicht nur im Gefässsystem weit verbreitet, sondern auch in Lunge, Leber, Nebennieren und Gehirn zu finden (198). Der Rezeptortyp A ( $ET_A$ ) mit einer Länge von 427 Aminosäuren (62) besitzt eine hohe Affinität zu ET-1 und ET-2, weniger zu ET-3 (5). Der  $ET_B$ -Rezeptor mit einer Länge von 442 Aminosäuren (62) bindet alle drei Isoformen mit der fast gleichen Affinität (10,199).

Intrahepatisch sind die ET<sub>B</sub>-Rezeptoren im venösen Anteil des Gefäßnetztes lokalisiert (36). ET<sub>A</sub>-Rezeptoren werden in glatten Gefäßmuskelzellen gefunden, wo sie eine Vasokonstriktion vermitteln (248). Desweiteren sind sie in der Leber für die Freisetzung vasodilatierender Faktoren wie Prostazyklin und NO verantwortlich (36).

Über ET<sub>B</sub>-Rezeptoren an Endothelzellen konnte sowohl eine NO vermittelte Vasodilatation (10), als auch eine Vasokonstriktion beobachtet werden (248).

Mittels ET<sub>B</sub>-Rezeptor wirkt ET-1 als autokriner Wachstumsfaktor (30,51) und führt an glatten Muskelzellen zu einer gesteigerten mitotischen Aktivität (257). Es kann an diesen Zellen aber auch, wiederum ET<sub>B</sub>-Rezeptor vermittelt, eine durch NO induzierte Zytotoxizität weiter verstärkt werden (157). Über eine positive Rückkopplung mittels ET<sub>B</sub>-Rezeptor fördert ET-1 seine eigene Genexpression (191).

#### 1.3.4 Zelluläre Wirkungsmechanismen der Endothelin-induzierten Vasokonstriktion

Die Gefäßantwort auf Endothelin ist stark abhängig von der extrazellulären Calcium-Konzentration (14,31,53). ET stimuliert die Phospholipase C (61,94). In Folge dieser Stimulation bilden sich zwei Second Messenger: Inositol-1,4,5-Triphosphat und 1,2-Diacylglycerol (94). Diese aktivieren die Proteinkinase C (106). Parallel dazu wird intrazelluläres Ca<sup>2+</sup> freigesetzt (94). Dies führt zu einem kurzfristigen und flüchtigen Anstieg des intrazellulären freien Calciums, gefolgt von einem allmählichen Rückgang auf einen doch insgesamt erhöhten Level gegenüber der Ausgangskonzentration (228). Durch aktivierte Calciumkanäle kommen extrazelluläre Calciumionen in das Zytoplasma, wodurch die Konzentration der intrazellulären Calciumionen weiter ansteigt. Die Folge ist eine langanhaltende Vasokonstriktion (137).

Die feste Bindung des ET mit seinem Rezeptor kommt durch die Interaktion der hydrophoben Domäne des ET mit membranständigen Lipiden zustande. Die beobachtete numerische Verminderung des ET-Rezeptors bei Dauerexposition mit hohen ET-Spiegeln ist funktionell mit einem verminderten ET-induzierten intrazellulären Ca<sup>2+</sup>-Anstieg verbunden (73).

### 1.3.5 Wirkungen auf den Blutdruck und den peripheren Blutfluss

Intravenöse Zufuhr von Endothelin-1 löst einen kurzzeitigen Blutdruckabfall, gefolgt von einem langanhaltenden Blutdruckanstieg aus (50,54,131,153). Dieser Blutdruckabfall wird durch die kurzfristige ET<sub>B</sub>-Rezeptor vermittelte Induktion von NO in Endothelzellen hervorgerufen (10). So mildert die durch ET-1 induzierte NO-Bildung den Anstieg des venösen wie auch den des arteriellen Widerstandes ab (168).

Die lang anhaltende Vasokonstriktion konnte in den Arterien und Venen vieler Säugetiere, wie z.B. Schweinen, Hunden, Ratten, Hasen und auch beim Menschen gezeigt werden (38,78,175,254), wobei Venen sich bei Anwesenheit von Endothelin deutlich stärker kontrahieren als dies bei Arterien der Fall ist (147).

Am Herzen besitzt Endothelin einen positiv inotropen und chronotropen Effekt. Um die ED<sub>50</sub> (Effektivdosis 50) zu erreichen, handelt es sich gemessen an der molaren Konzentration in beiden Fällen um einen der stärksten aller bisher bekannten Mediatoren (87,88).

Big-ET hat eine Halbwertszeit (HWZ) von ca. 9 min, wogegen die von ET nur ca. 1-2 min beträgt (71). Die ausserordentlich schnelle Eliminierung des ET-1 aus dem Blutkreislauf erfolgt durch die Nieren, Lunge und Leber (3,54,69,131,210,247).

### 1.3.6 Wirkungen auf die Leber und deren Mikrozirkulation bei Lebertransplantation

Die Manifestation eines hepatischen Reperfusionsschadens ist ein unvermeidliches Ereignis bei zahlreichen Operationen wie der Hepatektomie oder einer Lebertransplantation (19,67,79). Sicher ist, dass es sich hierbei um ein multifaktorielles Geschehen handelt (142). Eine Vielzahl von unterschiedlichen Mechanismen werden hierbei diskutiert und es gilt als gesichert, dass ET und NO daran beteiligt sind (83,90,104,110,174).

In der frühen Phase nach Reperfusion führen ödematös geschwollene Endothelzellen (239), Vasokonstriktion (136), Leukozytenansammlungen (91,252) und eine gesteigerte Plättchenaggregation innerhalb der Sinusoide (23) zu einem Versagen der Mikrozirkulation. Das Anschwellen der Endothel- und Kupfferzellen ist Folge eines

intrazellulären Ödems, da aufgrund der Ischämie und dem hieraus entstehenden Energiedefizit die aktiven transmembranären Transportsysteme ihre Aufgaben nicht mehr wahrnehmen können (239). Da ET eine Kontraktion der Lebersinusoide hervorruft, während Nitroprussid-Natrium (dies wirkt über eine rasche Freisetzung von NO (155)) ihre Dilatation bewirkt glaubt man, daß der Reperfusionsschaden die Folge einer Störung der sehr empfindlichen Balance zwischen NO und ET während der Reperfusionsphase ist (95,258).

In der frühen Phase der hepatischen Reperfusion ist die Konzentration von ET in Plasma und Leberparenchym signifikant erhöht (47,86,92,96,128,148,233,236). Dies korreliert gleichzeitig mit einem verminderten Blutfluß zur Leber (172). Kraus et al. konnten keinen Anstieg von ET-1 nach Reperfusion nachweisen (112), wohl aber war die Konzentration des Vorläuferproteins Big-ET erhöht (111). Desweiteren konnte gezeigt werden, daß Big-ET und ET, entgegen früherer Annahmen, auch in der Galle nach OLT zu finden sind (109).

Endothelin-1 ruft eine anhaltende Vasokonstriktion der portalen Gefäße hervor (48,250). So stieg nach Langzeitschämie der Widerstand in der Venae portae auf das Zehnfache des Ausgangswertes an mit der Folge einer entsprechend reduzierten Lebergesamtdurchblutung (165). Diese durch ET-1 hervorgerufene Vasokonstriktion ist von einer gleichzeitigen NO-Freisetzung der Endothelzellen und einer gesteigerten Glukoseproduktion begleitet (48,193).

Zwischen ET-1 und NO besteht ein funktioneller Antagonismus. Die durch ET hervorgerufene Kontraktion kann durch NO schnell und effektiv aufgehoben werden, wobei in Arterien diese Reaktion stärker zu beobachten ist als in Venen (133,147).

Einzigartig in der Leber ist die biphasische Geschwindigkeit der Erythrozyten unter steigendem ET-1-Einfluss. In niedrigen Konzentrationen ist diese erhöht und kann somit die sinusoidale Konstriktion ausgleichen. Bei weiter steigenden ET-1 Konzentrationen fällt dieser Kompensationsmechanismus weg und die Flußgeschwindigkeit nimmt sehr stark ab (8,163).

Erleidet die Leber einen Reperfusionsschaden, so wird intrahepatisch von sinusoidalen Endothelzellen Endothelin-1 gebildet (40,55). Cytokine, wie Interleukin-1 (IL-1) und der Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) sind starke Stimuli für eine Endothelin-1 Freisetzung (131,256). Im Experiment konnte ein sofortiger Anstieg von TNF- $\alpha$  nach

Reperfusion gezeigt werden (22). TNF- $\alpha$  könnte also für die hohen ET-1-Werte mitverantwortlich sein. Obwohl Goto et al. noch 24 Stunden nach Reperfusion hohe ET-1-Spiegel messen konnten, fand sich keine anhaltende Vasokonstriktion, sondern eine sich ständig verbessernde Leberperfusion (55).

Die Fähigkeit der Leber, sich nach einem erlittenen Reperfusionsschaden wieder zu erholen, ist ganz erheblich von einer intakten Mikrozirkulation abhängig (240). Hierbei spielt ET-1 in zahlreichen Organen eine herausragende Rolle (16,77,92).

Der Leber fehlen glatte Muskelzellen, dem Angriffsort von ET-1 (55). Sie besitzt vier Hauptpopulationen unterschiedlicher Zellen: sinusoidale Endothelzellen, Kupffer-Zellen, Hepatozyten und Fettzellen. Die meisten ET-Rezeptoren können auf den perisinusoidal gelegenen Zellen, den Ito- oder Fettzellen, gefunden werden (76). Diese exprimieren besonders im Falle eines Schadens oder einer Entzündung Oberflächenrezeptoren glatter Muskelzellen (211), zu denen auch  $\alpha$ -Aktin gehört. An solchen, jetzt „aktiviert“ genannten Ito-Zellen (187,191), binden ET-1 und ET-3 mit hoher Affinität und lösen dort eine Kontraktion aus (76). So verengt sich der für die Mikrozirkulation wichtige sinusoidale Durchmesser je nach Endothelin-1 Konzentration und mit ihm vermindert sich auch der sinusoidale Blutfluss (8,76,163,224,258). Dieser wiederum spielt bei der Geweboxygenierung eine bedeutende Rolle. Ein zu starkes Absinken dieses Parameters führt zu einer Gewebeschädigung (86,92,126,148,163). So konnte eine positive Korrelation zwischen dem sinusoidalen Blutfluss und der dortigen Sauerstoffsättigung festgestellt werden (163). Endothelin-1 ist also für eine reduzierte hepatische Geweboxygenierung durch sinusoidale Vasokonstriktion verantwortlich (8,258). Ferner wurde bei hoher Endothelin-1-Konzentration ein Anstieg der Serum-LDH, die sehr sensibel eine hepatozelluläre Schädigung anzeigt, gefunden (163).

Da Endothelin hauptsächlich über einen autokrinen oder parakrinen Mechanismus wirksam wird, ist eine hohe örtliche Endothelin-1-Konzentration wahrscheinlich (63,77,93,212).

Eine Leberzellschädigung kann durch den Einsatz eines ET-1-Antikörpers (158,236) oder eines Endothelin-Antagonisten vermindert werden (42-45,92,148,161,253). Besonders gute Ergebnisse wurden mit der intraportalen Infusion des Antagonisten TAK-044 vor der Reperfusion erzielt, da dies zu einer effektiveren Akkumulation des Antagonisten innerhalb des Lebergewebes führt (232). Derzeit werden grosse Anstrengungen unternommen, um wirksamere ET-Antagonisten zu entwickeln (237).

Der Einsatz von Bosentan (ein ET-Antagonist) mildert den Leberschaden nach Reperfusion ebenso stark ab, wie dies bei einem Anheben der NO-Konzentration der Fall ist (205). Diese Tatsache unterstreicht nochmals den großen Stellenwert, den diese beiden Faktoren in der Pathophysiologie des Reperfusionsschadens innerhalb der Leber einnehmen.

Endothelin spielt auch noch in anderen Bereichen nach Lebertransplantation eine wichtige Rolle. Es konnte gezeigt werden, daß bei Patienten mit vaskulären Komplikationen, sowie bei solchen mit mittlerer oder schwerer Abstossungssymptomatik die ET-Spiegel signifikant erhöht waren (34). Es wird vermutet, daß von Makrophagen freigesetzte Zytokine wichtige Stimuli für die ET-Sekretion durch Endothelzellen darstellen (217). Wurde die Abstossungssymptomatik behandelt, so sanken auch die ET-Spiegel wieder ab (35).

## **1.4 Stickstoffmonoxid (NO)**

### 1.4.1 Struktur und Entdeckung

Obwohl Stickstoffmonoxid ein Radikal mit der chemischen Formel NO ist, verhält es sich im menschlichen Körper überraschenderweise inert.

Furchgott und Zawadzki bewiesen 1980, daß Gefäße in Abwesenheit von Endothel keine Relaxation auf die im Körper zirkulierenden Stoffe wie z.B. Acetylcholin oder Bradykinin zeigen. Sie schlussfolgerten, daß es einen Stoff geben müsse, welcher die Relaxation vermittelt und nannten ihn „endothelium derived relaxing factor“ oder EDRF (46). Sieben Jahre später bewiesen zwei Forschergruppen unabhängig voneinander, daß es sich bei EDRF und NO um ein und denselben Stoff handelte (81,170). Wenig später folgte die Entdeckung, daß L-Arginin die Vorstufe von NO ist (169,203). Diese Information führte zu dem Beweis der lange Zeit für unmöglich gehaltenen endogenen NO-Produktion (127).

### 1.4.2 Produktion

Die Enzymfamilie, welche für die NO-Produktion verantwortlich ist, nennt man NO-Synthase (NOS). Es gibt drei unterschiedliche Isoformen des Enzyms, die neuronale (nNOS), endotheliale (eNOS) und induzierbare (iNOS) NO-Synthase (2). Alle drei Isoformen sind beim Menschen auf unterschiedlichen Genen und auf verschiedenen Chromosomen codiert (151).

Aus L-Arginin entsteht über zwei Monooxygenationen zuerst N<sup>ω</sup>-Hydroxy-L-Arginin (NAH) und anschließend L-Citrullin und NO. Jeder Schritt benötigt ein Äquivalent O<sub>2</sub>. Zusätzlich werden noch 1<sup>1/2</sup> Äquivalente NADPH und zwei Äquivalente H<sub>2</sub>O verbraucht (1).

### 1.4.3 Physiologie

NO führt über eine Aktivierung der Guanylatzyklase zu einer Gefäßrelaxation (13). Die Freisetzung von NO wird unter anderem durch Acetylcholin und Bradykinin (99), aber auch durch Endothelin stimuliert (27,36,200), welches wiederum in seiner Freisetzung von NO gehemmt wird (15).

Auch in zahlreichen anderen Bereichen spielt NO eine wichtige Rolle. So hemmt NO die Plättchenaggregation und Adhäsion (13,185) sowie die Proliferation glatter Muskelzellen (218) Es wird im Immunsystem von Makrophagen als zytotoxisches Agens z.B. gegen Tumorzellen und Mikroben eingesetzt (1,13) und ist im Gehirn als Neurotransmitter vermutlich für die Gedächtnisbildung mitverantwortlich (1,130).

Eine exzessive NO-Produktion kann schädlich sein, da dann Peroxynitrit, ein toxisches Radikal, entsteht (184). NO kann die mitochondriale Atmungskette (17,29,154,188) und die Glycerinaldehyd-3-phosphat Dehydrogenase hemmen (28) sowie die DNA beschädigen (18,154,249). Weitere Effekte schließen eine Regulation der Aktivität von Entzündungszellen (207) sowie eine verminderte Expression von Zytokinen und Adhäsionsmolekülen (13,26,129,129) ein. All diese Eigenschaften beeinflussen die Pathophysiologie des Reperfusionsschadens.

#### 1.4.4 Wirkungen auf die Leber und deren Mikrozirkulation bei Lebertransplantation

Die intrahepatische portale Blutzirkulation (149) wie auch die hämodynamischen Veränderungen nach Lebertransplantation werden von NO entscheidend mitbeeinflusst (32). Eine Dysfunktion des Endothels trägt durch ein Ungleichgewicht zwischen Vasokonstriktoren und Vasodilatoren mit einer hiermit verbundenen verminderten Freisetzung von NO zu einer postischämischen Organschädigung nach Reperfusion bei (117,133).

So produzieren Endothelzellen, die einer Hypoxie und darauffolgender Reoxygenierung ausgesetzt sind, generell wenig NO (178). Dieses wird durch eine erhöhte Produktion von Superoxiden im postischämischen Gewebe, welche NO inaktivieren noch weiter vermindert (56). Daher sind die Plasmaspiegel von  $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$ , den Endprodukten von NO, nach Reperfusion signifikant verringert. Das wiederum korreliert stark mit gleichzeitig erhöhten Transaminasen im Serum (162,196).

Die Genexpression der mRNA für die induzierbare NO-Synthase (iNOS) ist in transplantierten Lebern, besonders in der Zentrolobularregion, erhöht (89,115,116). Da dieser Vorgang allerdings 4-6 h dauert, gilt es als unwahrscheinlich, daß vor diesem Zeitrahmen eine signifikante NO-Produktion stattfindet (80,206). So sind die Konzentrationen an NO während der ersten Stunden nach Reperfusion niedrig. Dies ist die Folge niedriger intrazellulärer postischämischer Kofaktoren der NO-Synthese, wie NADPH- und  $\text{O}_2$  (223), sowie der Freisetzung großer Mengen an Arginase, welche L-Arginin als Vorgänger der NO-Synthese aufspaltet (119).

Sofort nach Reperfusion werden beim Menschen große Mengen an Arginase vom Transplantat freigesetzt, was 30 Minuten nach dem Beginn der Reperfusion zu einem Mangel an L-Arginin führt (213). Die Leber profitiert demzufolge möglicherweise vom pharmakologischen Anheben der NO-Konzentration in der frühen Phase nach Reperfusion. Eine erhöhte endogene NO-Produktion scheint in den späteren Stadien nach Reperfusion der Leber eine protektive Wirkung zu haben. Analog dazu ruft die Verabreichung eines NOS-Inhibitors eine Vergrößerung des Leberschadens in Tiermodellen hervor (107,171). An der Leber verbessert eine L-Arginin-Infusion oder ein echter NO-Spender wie FK409 die postischämische Reperfusion sowie die

Mikrozirkulation und schützt das Transplantat so ganz entscheidend vor einem Reperfusionsschaden (162,174,214). Dies gilt auch für das Pankreas (12,241) und die Lunge (177). Damit L-Arginin seine hepatoprotektive Wirkung entwickeln kann, muß allerdings das NOS-System im reperfundierten Organ intakt sein. Ist dies nicht der Fall, bleibt der erwünschte Effekt aus (214).

In der Phase nach der Transplantation hat sich der Plasma-NO-Spiegel und mehr noch die NO-Konzentration im Transplantatgewebe als ein sehr sensibler Indikator für eine akute Abstossungsreaktion erwiesen (85,120,225,231). Eine beeinträchtigte NO-Produktion steigert die Leukozytenadhäsion und -emigration in einer Art, wie man sie auch bei einer akuten Entzündung beobachten kann (37,113). Es ist sicher, daß NO bei der akuten Abstossungsreaktion (ab Tag 4 nach Transplantation) als einer der wichtigsten Mediatoren fungiert und die endogene NO-Produktion dabei erhöht ist (33,225).

### **1.5 Fragestellung**

Das Ziel der Arbeit ist die Untersuchung der Parameter Big-ET-1, ET-1 und NO bei der Lebertransplantation am Schweinemodell.

Als variable Parameter dienten unterschiedlichen Infusionslösungen, welche kurz vor der Reperusionsphase gegeben wurden:

1. Konventionelle Volumentherapie mit einer isoton-isoosmotischen Kontrollösung
2. Hyperton-isoosmotische Volumentherapie mit Hyperhes®
3. Diaspirin-Crosslinked Hemoglobin (DCLHb™).

Des weiteren wurden Gruppenunabhängig Big-ET-1, ET-1 und NO mit Calcium, sowie hämodynamisch relevanten und den Leberschaden angehenden Parametern in Relation gesetzt.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Versuchstiere

Die Versuchsreihe wurde am Schwein durchgeführt. Das Modell der Lebertransplantation am Schwein ist in zahlreichen Studien etabliert worden (164).

Die Tiere hatten ein Gewicht von  $33 \pm 6$  kg und gehörten zur Deutschen Landrasse. Das Explantationstier und das Implantationstier waren aus einem Wurf.

Sie wurden 24 Stunden präoperativ nüchtern gehalten, erhielten aber Wasser ad libidum.

#### 2.1.2 Zusammensetzung der Prüflösungen

Als Prüflösungen wurde Diaspirin Crosslinked Hemoglobin (DCLHb™ [Firma Baxter

**Tabelle 1:** Inhaltsstoffe der verwendeten Test- und Kontrollösungen

Medikament	NaCl (g/l)	Na <sup>+</sup> (mmol/l )	Cl <sup>-</sup> (mmol/l )	Osmolarität (mosm/l)	Hydroxyäthyl- stärke (g/l)	KOD (mmHg)	p50
DCLHb™	6,4	135	135	290	--	43	36
6 % HHES 200.000 / 0,5 / 7,2 % NaCl	72,0	1232	1232	2464	60	36	--
HAES-steril® 6 % HES 200.000 / 0,5 / 0,9 % NaCl	9,0	154	154	308	60	36	--

Legende: KOD = kolloidosmotischer Druck  
p50 = Sauerstoffpartialdruck, bei dem eine Sauerstoffsättigung des Hämoglobins von 50 % erreicht wird

Healthcare Corp. Roundlake, IL]) und Hyperhes® (6% Hydroxyäthylstärke; 200.000/0,5 in 7,2 %iger NaCl-Lösung [Firma Laevosan Gesellschaft, Linz, Austria]) eingesetzt. Kontrollösung war HAES-steril® (6% Hydroxyäthylstärke; 200.000/0,5 in 0,9 %iger NaCl-Lösung; Tabelle 1).

Vor Studienbeginn wurden 12 Kontroll- und 24 Verumlösungen (je 12 Hyperhes® und 12 DCLHb™-Lösungen) randomisiert.

## **2.2 Versuchsdurchführung und Messanordnung**

### **2.2.1 Narkose**

Am Vorabend der Versuchsreihe erhielten die Tiere 300 mg Ranitidin (Sostril®). Als Prämedikation wurde je nach Bedarf Midazolam (Dormicum®; 0,3 - 0,5 mg/kg KG i.m.[3 ml = 15 mg]), Ketamin, (Ketanest®; 10 – 12 mg/kg KG i.m.[2 ml = 100 mg]) und Atropin (0,02 - 0,05 mg/kg KG [2 ml = 0,5 mg]) gegeben.

Zum Versuchsbeginn wurde ein periphervenöser Zugang (Abbocath 20 G) in eine Ohrvene gelegt. Die Präoxygenierung erfolgte mit O<sub>2</sub> über eine Nasensonde. Die Sauerstoffsättigung (SPO<sub>2</sub>) und die Pulsfrequenz wurden überwacht.

Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Methohexital (Brevimytal®; 1 - 1,5 mg/kg KG [500 mg Pulver in 50 ml NaCl, 1 ml = 10 mg]) und Fentanyl (Fentanyl-Janssen®; ca. 5 – 10 ml [1 ml = 0,05 mg]). Es folgte eine Maskenbeatmung mit anschließender endotrachealer Intubation mit Tubus (ID 5,5 - 6,0) mittels eines Führungsstabes.

Zur Fortführung der Narkose wurde Fentanyl (Fentanyl-Janssen®; 0,05 mg/kg KG/h, entspricht 5 Ampullen a 0,5 mg auf 50 ml Perfusor) und Midazolam (Dormicum®; 1 mg/kg KG/h, entspricht 10 Ampullen a 5 mg auf 50 ml Perfusor) verwendet.

Zur Muskelrelaxierung kam Pancuronium (Pancuronium®; 0,04 mg/kg KG [1 ml = 2 mg], 25 Ampullen a 2 mg in 50 ml Perfusor) zum Einsatz.

Die maschinelle Beatmung erfolgte mit dem Gerät Siemens Servo 900 C. Das Tidalvolumen betrug ca. 10-12 ml/kg KG bei einer Atemfrequenz von 12-15 Atemzügen pro Minute. Die Beatmung wurde regelmäßig durch Blutgasanalysen

(STAT Profile 90XX, Nova Biomedical) kontrolliert. Der Respirator wurde an einen Deltatrac Atemgasmonitor angeschlossen.

Für das Monitoring wurde ein HP Monitor Merlin und ein daran angeschlossenes MARS Überwachungssystem mit Drucker benutzt. Hierbei wurden Elektrokardiogramm (EKG), Herzfrequenz (HR), mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), pulmonalarterieller Druck (PAP), zentraler Venendruck (ZVD), endexpiratorische CO<sub>2</sub>-Konzentration (etCO<sub>2</sub>), inspiratorische O<sub>2</sub>-Konzentration (SPO<sub>2</sub>), Atemminutenvolumen (AMV), Atemfrequenz (AF) und Gesamtsauerstoffverbrauch (VO<sub>2</sub>) permanent aufgezeichnet.

Als Notfallmedikamente standen Adrenalin (Suprarenin®; 1:1000, Verdünnung 1:10, 10 ml [1 ml = 0,1 mg]) sowie Noradrenalin (Arterenol®; 1:1000, Verdünnung 1:10, 10 ml [1 ml = 0,1 mg]) zur Verfügung.

Zur Volumen- und Transfusionstherapie standen unterschiedliche Substanzen bereit. Eine Elektrolytgrundlösung (Elektrolytgrundlösung®; 10 – 15 ml/kg KG/h) diente als intraoperative Erhaltungsdosis. Zur Aufrechterhaltung der Füllungsdrücke (ZVD, Wedge-Druck (Bezeichnung für den pulmonal kapillären Verschlußdruck, engl. PCWP = *pulmonary capillary wedge pressure*)) wurde, am Blutverlust orientiert (HAES-steril 6 %®; 200.000/0,5) appliziert.

Die Empfängertiere erhielten Vollblut der Spendertiere, wenn der Hb unter 5 g/dl fiel. Wenn in der Reperfusionphase trotz adäquater Volumensubstitution (normaler PCWP) kein MAP  $\geq$  70 mmHg erreicht wurde, wurde zusätzlich Arterenol® gegeben.

### 2.2.2 Präparation des Spendertieres

Nach erfolgreicher Intubation wurden die rechtsseitigen Halsgefäße freipräpariert. In die Vena jugularis externa (oder wahlweise in die Vena jugularis interna oder die Vena subclavia) wurde ein Shaldon-Katheter plaziert (Shaldon 12F 3L 16 cm 0,35). In die Arteria carotis interna wurde eine 16 G Abocuth-Kanüle mit Heidelberger Verlängerung zur Blutdruckmessung und Blutentnahme gelegt. Nun erfolgte die Blutentnahme vor Laparatomie (Tabelle 2).

Nach erfolgter Laparatomie wurde eine Splenektomie mit Ligatur der Arteria und Vena lienalis durchgeführt. Anschließend wurde die Leberpforte freipräpariert. Dies schloß

die Durchtrennung des Ductus choledochus, die Freilegung der Glissonschen Faszie sowie die Freilegung der Gefäße im Ligamentum hepatoduodenale mit ein.

Nach dem Auslösen der Leber wurde eine Schleuse (8F 0,35) in der Aorta platziert. Nun wurden die Zwerchfellvenen ligiert und anschließend die Aorta oberhalb des Truncus coeliacus abgeklemmt. Es erfolgte die Blutentnahme vor der anhepatischen Phase. Jetzt wurden 50 IE/kg KG Heparin i.v. appliziert.

Nach anschließender Perfusion der Aorta mit 4°C kaltem Custodiol 1000 HTK nach Breitschneider und Perfusion der Vena portae mit 4°C kaltem Custodiol 5000 HTK nach Breitschneider wurde die obere und untere Vena cava zur Ausblutung eröffnet. Es erfolgte die Entnahme der perfundierten Leber. Nach erfolgtem Absetzen des Ductus cysticus wurde die Leber in 4°C kaltem Eiswasser bis zur Implantation gelagert.

Als letzter Operationsschritt wurde das sogenannte Cava-Conduit erstellt. Dabei handelt es sich um ein Stück der Vena cava rund um die beiden Venae renales. Dieses Stück wurde aus dem Situs freipräpariert und das kleinste Gefäß, meistens die Vena renalis sinistra wurde abgebunden. In einem Cava-Ende diese Conduits wurde nun als allerletzter Schritt der Bypass-Katheter (AD = 30 cm FR, ID = 7 cm, 0 cm, Vent Konnektor 3/8“ x 3/8“ LL) bis zu seinem Plastikring eingeführt und fixiert.

### 2.2.3 Präparation des Empfängertieres

Nach erfolgreicher Intubation wurden wie beim Spendertier die rechtsseitigen Halsgefäße freipräpariert und in die Vena subclavia ein Shaldon-Katheter platziert (Shaldon 12F 3L 16 cm 0,35) sowie eine Schleuse für den Swan-Ganz-Katheter in die Vena jugularis gelegt (5,5F 0,35). Unter radiologischer Kontrolle wurde über die Arteria carotis interna in den linken Ventrikel ein Linksherzkatheter sowie eine Abocuth-Kanüle mit Heidelberger Verlängerung cranial des Linksherzkatheters platziert. Es folgte die Blutabnahme vor Laparatomie (Tabelle 2).

In die Vena jugularis externa dextra wurde nach sachgerechter Präparation der Bypass-Katheter (24F oder 30F) gelegt.

Nach der sich anschließenden Laparatomie wurde ein Dauerkatheter mittels einer Tabaksbeutelnaht in der Harnblase fixiert. Es folgte die Darstellung der Gefäße im Leberhilus und die Ligatur des Ductus choledochus.

Nun wurde in die Aorta eine Schleuse (6F) für den Pigtail-Katheter gelegt. Es folgte eine weitere Blutentnahme.

Nach dem sich anschließenden partiellen Ausklemmen der Vena cava wurde eine Anastomose der Vena cava des Cava-Conduits auf den ausgeklemmten Teil der Vena cava des Empfängertieres genäht. Danach wurde eine weitere Anastomose der Vena renalis dextra (oder sinistra, je nachdem, welche von beiden im Rahmen der Spenderoperation vorbereitet worden war) des Cava-Conduits auf die Vena portae des Empfängertieres genäht. Nach diesem letzten Schritt zur Fertigstellung des Bypasses konnte dieser, nachdem der lange Verbindungsschlauch an einem Ende an dem Cava-Conduit und mit dem anderen Ende am Ansatz des in der Vena jugularis externa dextra steckenden Katheters verbunden worden war, in Betrieb genommen werden. Durch ihn wurde das Blut der Vena portae und das der Vena cava in die Vena jugularis externa dextra geleitet.

Nun konnten die Vena portae und die Arteria hepatica propria abgeklemmt und abgesetzt werden. Auch die Vena cava wurde unterhalb der Bypass-Anastomose abgeklemmt und anschließend unter- und oberhalb der Leber abgesetzt, da beim Schwein die Vena cava nicht wie beim Menschen retroperitoneal, sondern intrahepatisch verläuft. Jetzt konnte die Empfängerleber entnommen und die Spenderleber in den Situs plaziert werden. Zuerst wurde die obere Anastomose der Vena cava mit Ethibond 4,0 doppelt armiert genäht. Mit der unteren Anastomose der Vena cava wurde ebenso verfahren. Es folgte eine Dichtigkeitsprüfung der Anastomosen mittels Dauerkatheter und NaCl-Lösung. Die Anastomose der Vena portae propria wurde mit Prolene 5,0 doppelt armiert, die der Arteria hepatica mit Prolene 5,0 BV 1 doppelt armiert genäht. Anschließend folgte die Messung in der anhepatischen Phase.

5 Minuten vor Reperfusion wurde jeweils eine der randomisierten Testlösungen i.v. appliziert.

Dann erfolgte die gleichzeitige Reperfusion der Vena portae und der Arteria hepatica propria. Zeitlich nur leicht versetzt davon wurden die Klemmen der Vena cava oberhalb und unterhalb der Leber geöffnet.

Nach der sich anschließenden Rückgabe des Blutes aus dem Bypass in die Vena jugularis externa dextra erfolgte noch die Drainage des Gallenganges (Braunüle 18 G).

Nach der letzten Messung, 365 Minuten nach Reperfusion, wurde das Tier in tiefer Narkose durch eine Überdosis Pentobarbital (Nembutal®) sowie eine gesättigte KCl-Lösung getötet.

#### 2.2.4 Messzeitpunkte

Nach einem vorab festgelegtem Zeitplan wurden die Proben entnommen (Tabelle 2). Direkt nach der Blutentnahme wurden die Proben (EDTA-Röhrchen, Sarstedt, Nümbrecht) auf 4°C gekühlt und postoperativ zur Plasmagewinnung zentrifugiert. Das Plasma wurde bis zur Messung bei -70°C gelagert.

**Tabelle 2:** Messzeitpunkte

Empfängertier	Messpunkt	Zeitpunkt der Messung
	K1	vor Laparatomie
	A0	vor Abklemmen der Lebergefäße
	A1	45 min später
	Perfusat	nach dem Öffnen der Klemmen aus abgehender Lebervene
	R1	5 min nach Reperfusion
	R2	15 min später
	R3 - R5	jeweils alle 15 min
	R6 - R10	jeweils in Abständen von 1 Stunde

### 2.3 Durchführung der Enzymimmunoassays für Big-ET / ET

#### 2.3.1 Testprinzip eines Sandwich-ELISA

Der für das zu untersuchende Molekül spezifische Sandwich-ELISA verwendet einen auf Mikrotiterplatten beschichteten immunaffinitäts-chromatographisch gereinigten polyklonalen Erstantikörper. Ein monoklonaler Zweitantikörper bildet mit der in der Probe vorhandenen zu untersuchenden Struktur und dem gebundenen Erstantikörper ein

Sandwich. Nach Auswaschen aller nicht spezifisch gebundenen Substanzen wird die Menge an gebundenem monoklonalen Antikörper bestimmt.

Sie entspricht der Menge der in der Probe vorhandenen zu untersuchenden Struktur. Zur Detektion wird ein mit Peroxidase konjugierter anti-Maus-Antikörper eingesetzt. Nach abermaligem Waschen wird Tetramethylbenzidin (TMB) als Substrat zugegeben. Die in einem ELISA-Photometer meßbare Farbentwicklung ist der Konzentration der in der Probe vorhandenen untersuchten Struktur direkt proportional.

### 2.3.2 Big-ET-ELISA und ET-ELISA

Big-ET und ET wurde mit Hilfe von kommerziellen Tests (Big-ET Enzymimmunoassay, Biomedica GmbH, Wien, Österreich; ET Enzymimmunoassay, Biomedica GmbH, Wien, Österreich) bestimmt.

Die Aufarbeitung der Proben zur Bestimmung von Big-ET und von ET war identisch und wurde daher zusammengelegt.

Im ersten Arbeitsschritt wurde das Fällungsreagenz mit der angegebenen Menge Aceton (120 ml) hergestellt. Die Big-ET Standards und Kontrollen wurden in jeweils 1 ml Assaypuffer aufgelöst. Nun wurde 1 ml Probe in ein 4,5 ml Röhrchen (Röhre/Tube, Sarstedt, Nümbrecht) gegeben. Jeweils 300 µl der Standards und die Kontrolle von Big-ET wurden ebenfalls in ein PP-Röhrchen geben (Eppendorf Reaktionsgefäß, 2 ml). Nun wurde zu den Proben jeweils 1,5 ml Fällungsreagenz und zu den Standards und Kontrollen jeweils 450 µl Fällungsreagenz zugegeben und alles gut durchgemischt (Vortex). Danach wurden alle Proben, Standards und Kontrollen auf 4°C abgekühlt und bei 4°C und 3000 x g 10 min lang zentrifugiert (Heraeus Zentrifuge, Varifuge K, Hanau). Nun wurde der Überstand quantitativ abgehoben und in ein anderes PP-Röhrchen transferiert. Dieser entnommene Überstand wurde mittels Speedvac (Speedvac, Vacuum Concentrator, Bachofer, Reutlingen) eingedampft. Hierzu wurde noch eine Kühlfalle (Bachofer, Reutlingen) und eine Vakuumpumpe (Type BS 2208, G&C Machines, Newcastle, England) benötigt. War der Inhalt aller Röhrchen getrocknet, wurden die Proben in 750 µl Assaypuffer und die Kontrollen/Standards in jeweils 300 µl Assaypuffer gelöst. Von den 700 µl wurden 2 x 100 µl für den Big-ET-

Kit eingesetzt und 2 x 200 µl für den ET-Kit. Von den Kontrollen und Standards wurden jeweils 100 µl in die Vertiefungen des Wells pipetiert.

Die weitere Handhabung kann im Einzelnen den Inkubationsschemata in den entsprechenden Anleitungen entnommen werden.

An Geräten wurde noch ein Mikrotiterplattenwaschgerät (Microplate Washer, Denley, Billingshurst, West Sussex, England), ein Schüttler (Easia Shaker, Medgenix Diagnostics, Ratingen) und ein Mikrotiterplattenphotometer mit Software (Elisa-Reader SLT, Crailsheim) benutzt.

## **2.4 NO-Bestimmung**

Auch Stickstoffmonoxid wurde mit einem kommerziell erhältlichen Test bestimmt (Nitric Oxide Colorimetric Assay, Boehringer Mannheim).

### **2.4.1 Testprinzip**

Der Nachweis von Stickstoffmonoxid in biologischen Flüssigkeiten erfolgt über Nitrit, indem das in der Probe vorhandene Nitrat durch reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADPH) in Gegenwart des Enzyms Nitrat-Reduktase (NR) zu Nitrit reduziert wird.  $\text{Nitrat} + \text{NADPH} + \text{H} \xrightarrow{+\text{NR}} \text{Nitrit} + \text{NADP}^+ + \text{H}_2\text{O}$ .

Das bei dieser Reaktion gebildete Nitrit reagiert mit Sulfanilamid und N-(1-Naphtyl)-ethylendiamin-dihydrochlorid unter der Bildung eines rot-violetten Diazo-Farbstoffes.

$\text{Nitrit} + \text{Sulfanilamid} + \text{N-(1-Naphtyl)-ethylendiamin-dihydrochlorid} \rightarrow \text{Diazo-Farbstoff}$ .

Der Diazo-Farbstoff ist eine Messgröße und aufgrund seiner Absorption im sichtbaren Bereich bei 550 nm zu bestimmen.

### 2.4.2 Testdurchführung

Es wurden pro Probe 100 µl Plasma und 100 µl Kaliumphosphatpuffer in einen Ultrafilter gegeben (Centrisart C4, MWCO 10 Kilodalton, Sartorius AG, Göttingen oder Centrex UF-0,5, MWCO 10 Kilodalton, Schlecher und Schuell, Dassel) und anschließend 45 min bei 5000 x g zentrifugiert (Zentrifuge: Mikroliter, Hettich, Tuttlingen). Das Ultrafiltrat wurde als Probelösung eingesetzt. Die Standardreihe wurde, wie im Ansatzprotokoll beschrieben, hergestellt.

In das Inkubationsgefäß (Mikrotiterplatte 96 Well, Becton Dickinson Labware, USA) wurden jeweils 125 µl der Probelösungen, der Standardlösungen und bidest. Wasser als Leerwert pipetiert. Anschließend erfolgte die Zugabe von jeweils 15 µl des Reaktionsgemisches 2 in jede Vertiefung. Nach gutem Mischen wurde 1 min später 5 µl des Reaktionsgemisches 3 in jede Vertiefung zugegeben. Nach erneutem Mischen folgte bei Raumtemperatur eine Inkubationsphase von 30 min.

Die Messungen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt. Nach erfolgter Inkubation wurde eine neue Mikrotiterplatte zu Messung bestückt.

Von den Proben, den Standards und dem Leerwert wurden jeweils 60 µl eingesetzt. Nach Zugabe von je 30 µl Farbreagenz I und 30 µl Farbreagenz II in jede Vertiefung wurde nach erneutem Mischen 5 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Die Extinktion wurde bei 550 nm mit einem Mikrotiterplattenphotometer und der zugehörigen Software (Elisa-Reader SLT, Crailsheim) gemessen.

## 2.5 Statistische Methoden

Es wurden ausschließlich nichtparametrische Rangsummentests zur Signifikanzermittlung verwendet. Der Rangsummentest nach Wilcoxon fand bei zwei, der Test nach Kruskal-Wallis beim Vergleich von drei Gruppen Anwendung. Das Programm JMP 4.0.0 (SAS Institute Inc., SAS Campus Drive, Cary, NC, USA) wurde verwendet. Irrtumswahrscheinlichkeiten unter 0,05 wurden als signifikant betrachtet und gekennzeichnet (\*).

Die statistischen Unterschiede beziehen sich immer auf den Vergleich der Gruppen zum gleichen Messzeitpunkt.

Der Median zum Zeitpunkt R1, 5 min nach Reperfusion benutzt, um die Versuchstiere in die zwei Gruppen Big-ET-hoch (Gruppe BigH) und Big-ET-tief (Gruppe BigT), ET-hoch (Gruppe ETH) und ET-tief (Gruppe ETT) beziehungsweise NO-hoch (Gruppe NOH) und NO-tief (Gruppe NOT) einzuteilen.

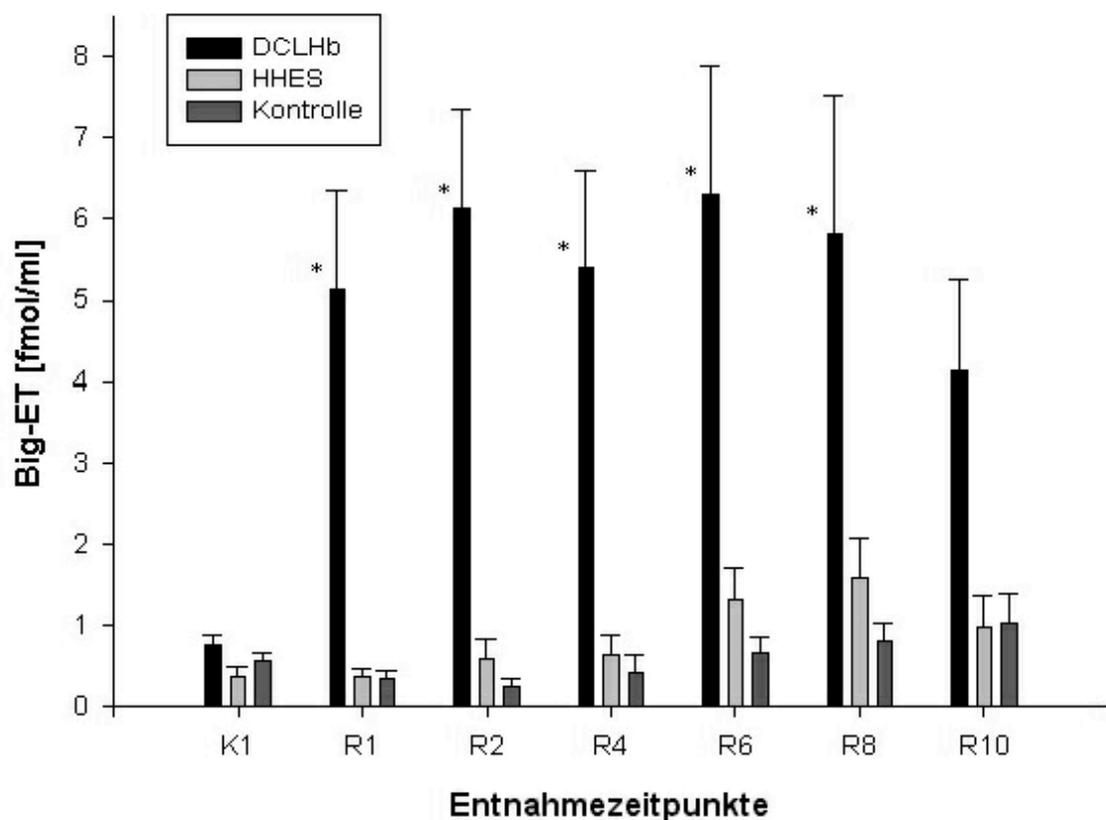
### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Intraoperativer Verlauf der Plasmakonzentrationen von Big-ET, ET und NO

##### 3.1.1 Verlauf der Plasmakonzentration von Big-ET

Um den Einfluß der Reperfusionstrategie auf die Ausschüttung der Endothelinvorstufe Big-Endothelin zu klären, wurden die Big-ET-Konzentration in Gruppen getrennt dargestellt.

Bei den Empfängerschweinen der DCLHb-Gruppe war ein Anstieg der Big-ET-Konzentration gegenüber den anderen beiden Gruppen nach Reperfusion auf  $5,1 \pm 1,2$  fmol/ml zu beobachten (Abbildung 1;  $p < 0,05$ ). Diese Differenz blieb 6,5 h nach



**Abbildung 1:** Intraoperativer Verlauf der Big-ET-Konzentrationen nach Behandlungsgruppen (DCLHb: n=13, HHES: n=10, Kontrolle: n=10; \* $p < 0,05$ )

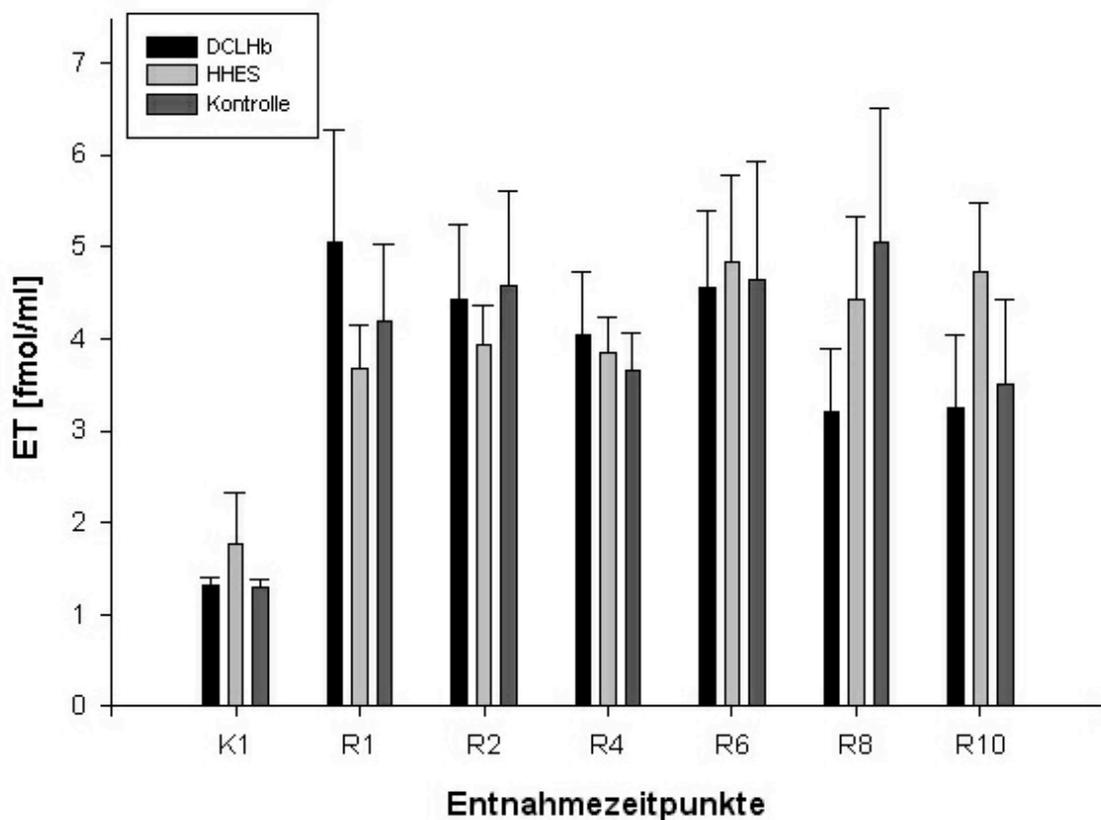
Reperfusion (R8) erhalten. 8,5 h nach Reperfusion (R10) fiel der Big-ET-Spiegel in dieser Gruppe auf  $4,1 \pm 1,1$  fmol/ml. Dennoch blieb er gegenüber den anderen beiden Gruppen auf einem deutlich erhöhten Niveau (HHES:  $1,0 \pm 0,4$  fmol/ml; Kontrolle:  $1,0 \pm 0,4$  fmol/ml).

2 Stunden nach Reperfusion stieg die Big-ET-Konzentration auch in den Empfängerschweinen der HHES-Gruppe ( $1,3 \pm 0,4$  fmol/ml), um gegen Ende des Beobachtungszeitraumes wieder auf einen leicht über dem Ausgangsniveau liegenden Wert zurückzufallen ( $1,0 \pm 0,4$  fmol/ml).

Die Kontrollgruppe blieb konstant auf niedrigem Niveau zwischen  $0,2 \pm 0,1$  fmol/ml und  $1,0 \pm 0,3$  fmol/ml.

### 3.1.2 Verlauf der Plasmakonzentration von ET

Nach dem starken Anstieg der Konzentration der Vorstufe Big-ET in den Schweinen



**Abbildung 2:** Intraoperativer Verlauf der ET-Konzentrationen nach Behandlungsgruppen (DCLHb: n=13, HHES: n=10, Kontrolle: n=10)

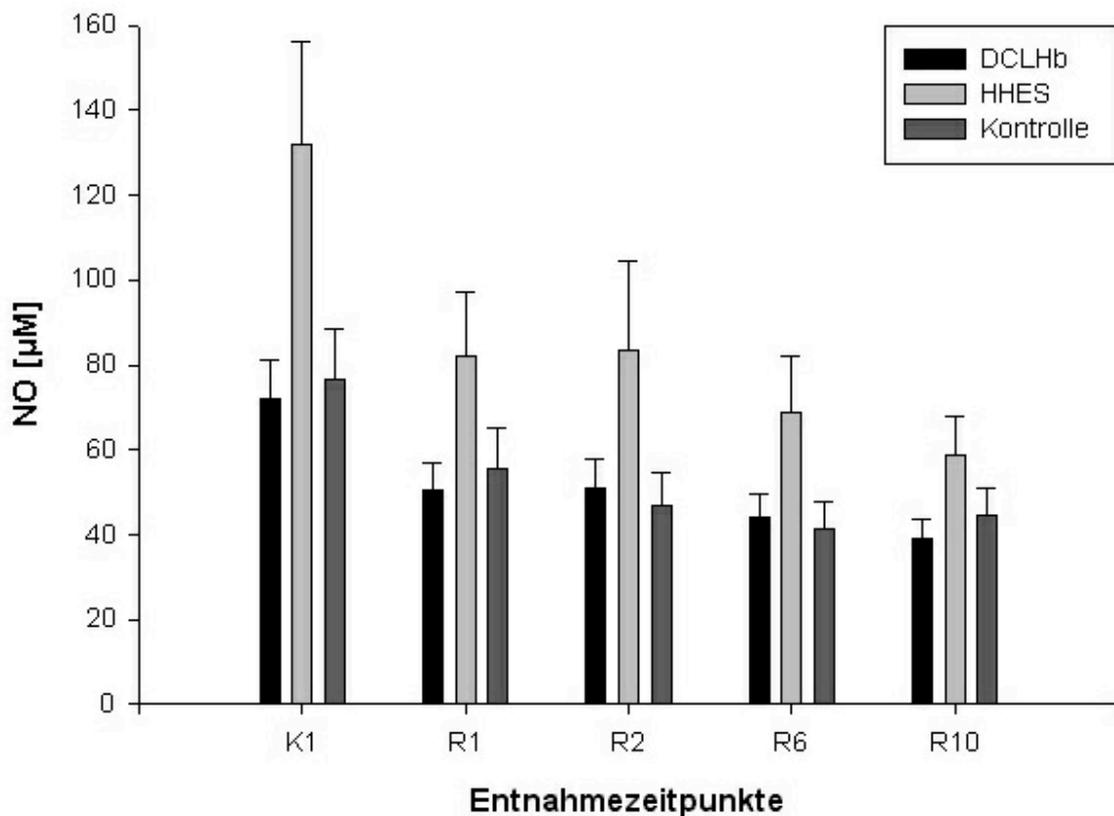
der DCLHb-Gruppe sollte nun geklärt werden, ob dies bei der eigentlich vasoaktiven Substanz Endothelin auch zu beobachten ist.

Ein signifikanter Anstieg der ET-Konzentration konnte nach Reperfusion in allen drei Gruppen beobachtet werden, welcher innerhalb der DCLHb-Gruppe am stärksten ( $5,1 \pm 1,2$  fmol/ml) und bei der HHES-Gruppe ( $3,7 \pm 0,5$  fmol/ml) am schwächsten ausgeprägt war (Abbildung 2; DCLHb:  $p < 0,001$ ; HHES:  $p < 0,002$ ; Kontrolle:  $p < 0,001$ ). 75 min nach Reperfusion (R4) sank die Konzentration in der DCLHb-Gruppe und der Kontrollgruppe leicht ab (DCLHb:  $4,0 \pm 0,7$  fmol/ml; Kontrolle:  $3,7 \pm 0,4$  fmol/ml) um zwei Stunden nach Reperfusion (R6) wieder das gleiche Niveau derselben zu erreichen. Die ET-Konzentration in der HHES-Gruppe stieg zum Zeitpunkt R4 gleich wie in leicht an (HHES:  $3,8 \pm 0,4$  fmol/ml) und erhöhte sich dann noch weiter, um bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes auf diesem neuen Niveau (R6:  $4,8 \pm 0,9$  fmol/ml; R10:  $4,7 \pm 0,8$  fmol/ml) zu bleiben. Die DCLHb-Gruppe sank 4 h nach Reperfusion (R8) leicht ab und blieb bis Beobachtungsende in diesem Konzentrationsbereich ( $3,2 \pm 0,7$  -  $3,2 \pm 0,8$  fmol/ml). Die Kontrollgruppe erreichte nach einem kleinen Anstieg 4 h nach Reperfusion (R8) gegen Beobachtungsende (R10) ebenfalls diese Plasmakonzentration für ET ( $3,5 \pm 1,0$  fmol/ml).

### 3.1.3 Verlauf der Plasmakonzentration von NO

Um die Beeinflussung der unterschiedlichen Reperusionsstrategien auf die NO-Freisetzung graphisch sichtbar zu machen, wurde die NO-Konzentration nach Gruppen getrennt aufgetragen.

Die NO-Konzentration aller drei Gruppen fiel bis zur Reperfusion ab, wobei der Ausgangswert der HHES-Gruppe gegenüber den beiden anderen deutlich erhöht war (DCLHb:  $50,5 \pm 6,4$   $\mu$ M;  $p < 0,001$ ; HHES:  $82,2 \pm 15,0$   $\mu$ M;  $p < 0,001$ ; Kontrolle:  $55,4 \pm 9,7$   $\mu$ M;  $p < 0,01$ ; Abbildung 3). Nach Reperfusion blieben die Konzentrationen der DCLHb- und Kontrollgruppe in etwa in diesem Konzentrationsbereich. Die Konzentration der HHES-Gruppe fiel weiter leicht, blieb aber über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg höher als die anderen beiden Gruppen. Der Abfall der Kontrollgruppe von R1 nach R2 ist ebenso signifikant



**Abbildung 3:** Intraoperativer Verlauf von NO nach Behandlungsgruppen (DCLHb: n=13, HHES: n=10, Kontrolle: n=10)

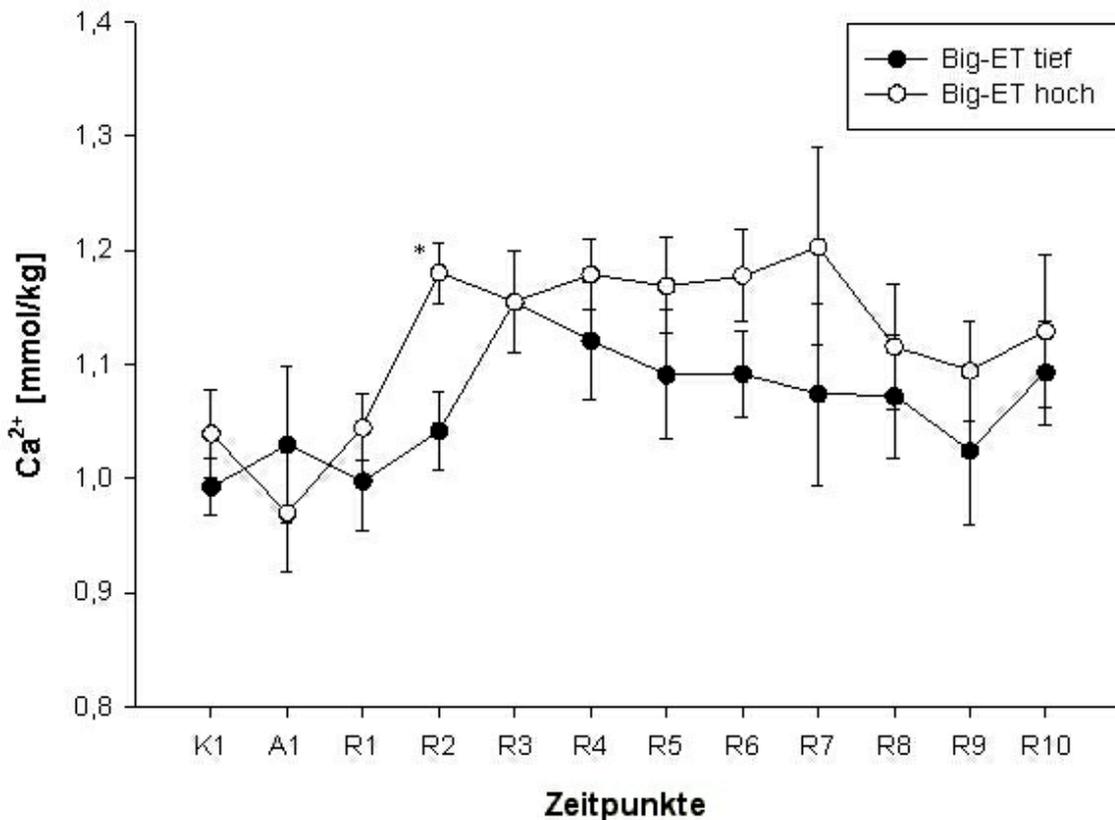
( $p < 0,01$ ) wie der von R2 nach R6 ( $p < 0,003$ ). Auch innerhalb der DCLHb-Gruppe gibt es noch zwei signifikante Abfälle, von R2 nach R6 ( $p < 0,003$ ) und von R6 nach R10 ( $p < 0,01$ ).

### 3.2 Calcium

In den folgenden Kapiteln wurde der Median zum Zeitpunkt R1, 5 min nach Reperfusion benutzt, um die Versuchstiere in die zwei Gruppen Big-ET-hoch (Gruppe BigH) und Big-ET-tief (Gruppe BigT), beziehungsweise ET-hoch (Gruppe ETH) und ET-tief (Gruppe ETT) einzuteilen.

### 3.2.1 Intraoperative Calciumkonzentration und Plasmakonzentration von Big-ET

Um festzustellen, wie sich die Big-ET-Spiegel 5 Minuten nach Reperfusion (R1) auf die Calciumkonzentration im Plasma auswirken, wurde deren Verlauf gegen die Zeit aufgetragen.



**Abbildung 4:** Intraoperative Calciumkonzentration im Abhängigkeit von Big ET zum Zeitpunkt R1 (BigT: n=17; BigH: n=16; \*p<0,05)

Eine hohe Big-ET-Konzentration unmittelbar nach der Reperfusionsphase, zum Zeitpunkt R1, hat eine fast über den gesamten Beobachtungszeitraum nach der Reperfusion andauernd höhere Calciumkonzentration im Plasma ( $1,02 \pm 0,03$  -  $1,20 \pm 0,07$  mmol/kg; Abbildung 4) zur Folge als eine niedrige Big-ET-Konzentration ( $1,00 \pm 0,04$  -  $1,15 \pm 0,04$  mmol/kg). Dieser Unterschied ist 20 Minuten nach Reperfusion (R2) am deutlichsten ausgeprägt ( $p < 0,007$ ).

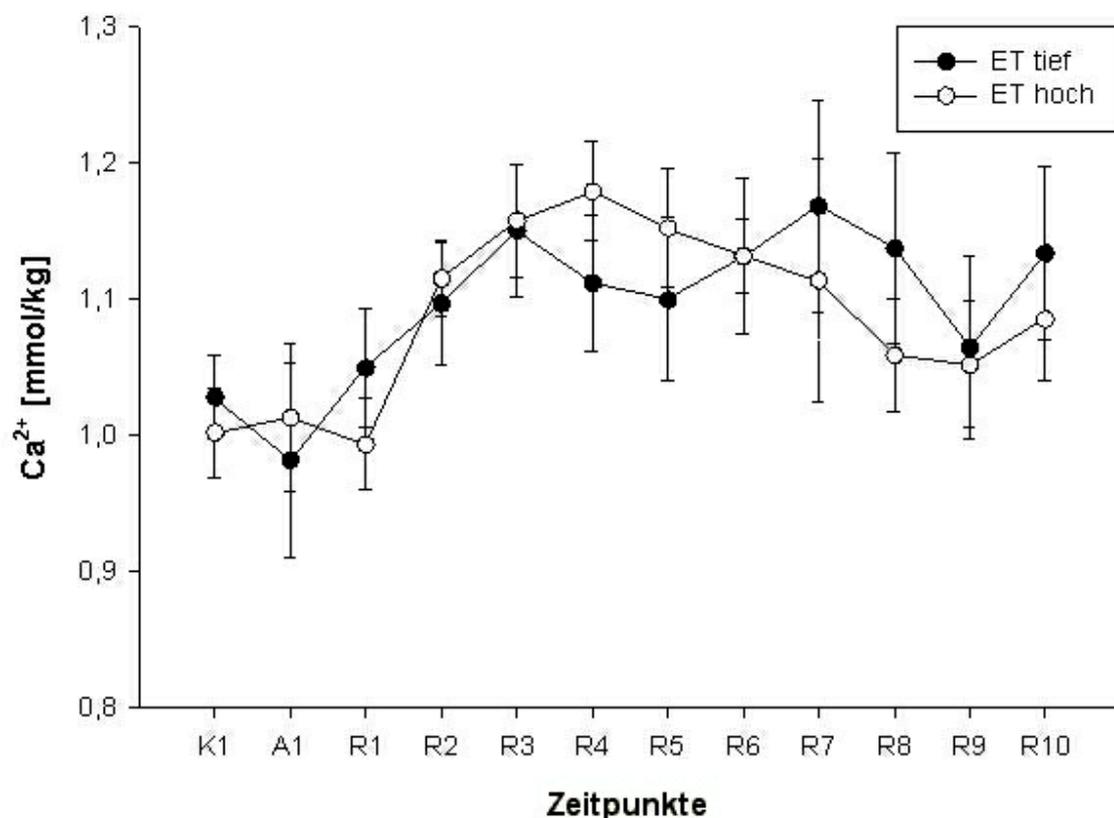
Ein deutlicher Konzentrationsanstieg ist in der Gruppe BigH zwischen den Zeitpunkten R1 und R2, 5 beziehungsweise 20 min nach Reperfusion, zu sehen ( $p < 0,001$ ). Auch in

der anderen Gruppe gibt es einen solchen Anstieg, allerdings 15 min verzögert von R2 auf R3, 20 beziehungsweise 35 min nach Reperfusion ( $p < 0,005$ ).

### 3.2.2 Intraoperative Calciumkonzentration und Plasmakonzentration von ET

Da es einen Zusammenhang zwischen Vasokonstriktion, extrazellulärer Calciumkonzentration und plasmatischer ET-Konzentration gibt, war es interessant zu sehen, ob eine hohe ET-Konzentration ihrerseits den Calciumspiegel beeinflusst.

Die ETT-Gruppe zeigt einen signifikanten Konzentrationsanstieg von der anhepatischen Phase (A1) zum ersten Messpunkt 5 min nach Reperfusion (R1) (Abbildung 5;  $p < 0,01$ ). Von R1 zum Messpunkt R2, 20 min nach Reperfusion, steigt in beiden Gruppen die Calciumkonzentration deutlich an (ETT:  $1,05 \pm 0,04$  -  $1,10 \pm 0,05$  mmol/kg; ETH:  $1,00 \pm 0,03$  -  $1,12 \pm 0,03$  mmol/kg;  $p < 0,003$ ).



**Abbildung 5:** Intraoperative Calciumkonzentration im Abhängigkeit von ET zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16)

Der weitere Verlauf zeigt sich uneinheitlich. Im Zeitraum von 20 – 120 min nach Reperfusion ist der Calciumspiegel in der Gruppe ETH höher, als in der Vergleichsgruppe ETT, danach ist es gegenteilig.

Nach einem deutlichen Konzentrationsabfall der Gruppe ETT im Zeitraum 4 – 5 h nach Reperfusion (R8 - R9) steigt die Plasmakonzentration 6 h nach Reperfusion signifikant an (R10) wieder an ( $1,13 \pm 0,06$  -  $1,06 \pm 0,07$  -  $1,13 \pm 0,06$  mmol/kg;  $p < 0,02$ ).

### **3.3 Korrelation von Big-ET / ET mit der Hämodynamik**

In den folgenden Kapiteln wurde die Gruppenteilung wie bereits im Kapitel 3.2 vorgenommen. Der Median zum Zeitpunkt R1, 5 min nach Reperfusion wurde benutzt, um die Versuchstiere in zwei Gruppen Big-ET-hoch (Gruppe BigH) und Big-ET-tief (Gruppe BigT), beziehungsweise ET-hoch (Gruppe ETH) und ET-tief (Gruppe ETT) einzuteilen. Hier war der Einfluß von Big-ET und ET auf die Hämodynamik interessant. Die Gabe von Noradrenalin (Arterenol®) in den unterschiedlichen Big-ET-Gruppen unterschied sich nicht signifikant (BigT:  $4 \pm 13 \mu\text{g/kg KG}$ ,  $109 \pm 361 \mu\text{g}$  absolut; BigH:  $4 \pm 9 \mu\text{g/kg KG}$ ,  $110 \pm 241 \mu\text{g}$  absolut). Dasselbe galt auch für die ET-Gruppen (ETT:  $6 \pm 16 \mu\text{g/kg KG}$ ,  $171 \pm 425 \mu\text{g}$  absolut; ETH:  $1 \pm 2 \mu\text{g/kg KG}$ ,  $47 \pm 71 \mu\text{g}$  absolut).

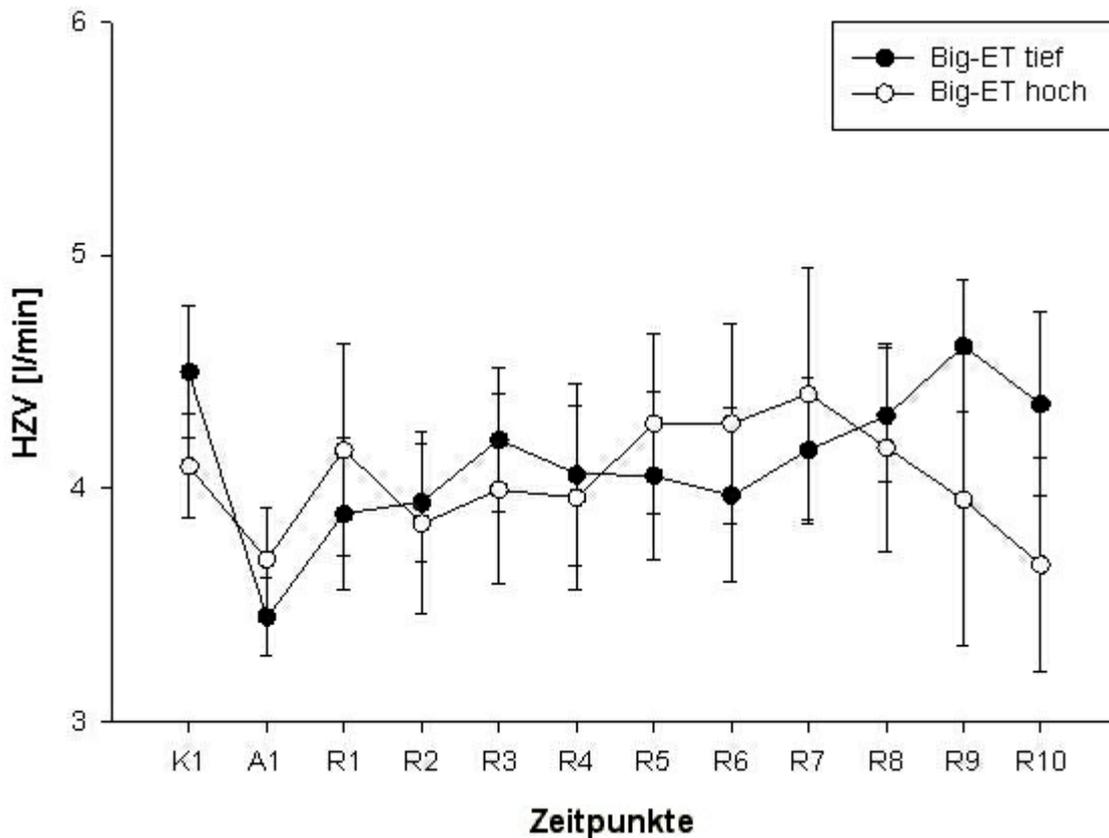
#### **3.3.1 Herzzeitvolumen (HZV)**

Vom Operationsbeginn (K1) bis zur anhepatischen Phase (A1) fällt in beiden Gruppen das HZV stark ab (BigT:  $4,50 \pm 0,28$  -  $3,45 \pm 0,17$  l/min; BigH:  $4,10 \pm 0,22$  -  $3,70 \pm 0,22$  l/min; Abbildung 6). Zur Reperfusion (R1) hin steigt es in beiden Gruppen wieder an (BigT:  $3,89 \pm 0,32$  l/min; BigH:  $4,16 \pm 0,46$  l/min). Die Gruppe BigH hat einen signifikanten Abfall 5 – 20 min nach Reperfusion (R1 - R2;  $p < 0,001$ ).

Am Operationsende hat die Gruppe BigH einen Abwärtstrend, der über mehrere Messpunkte hin anhält (R7 - R10; 3 - 6 h nach Reperfusion;  $4,40 \pm 0,53$  -  $3,67 \pm 0,46$  l/min).

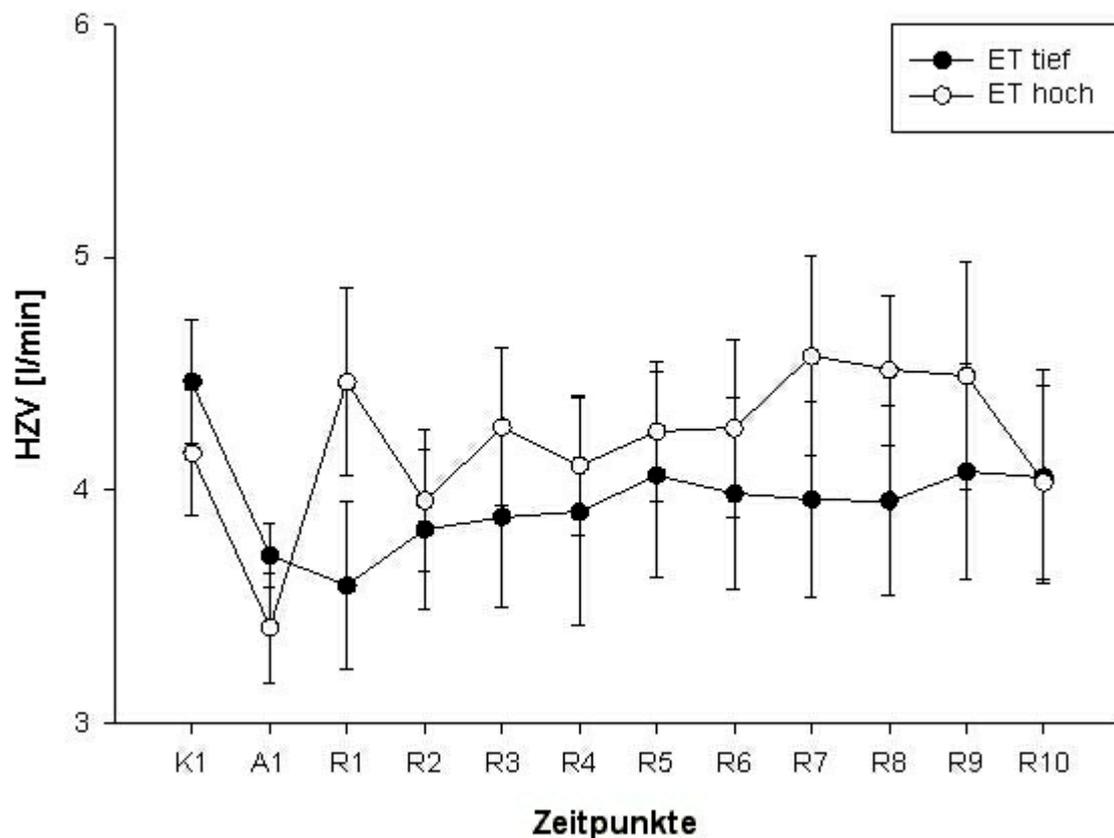
Für ET ist dieses Bild wesentlich einheitlicher. Vom Operationsbeginn (K1) bis zur anhepatischen Phase (A1) fällt in beiden Gruppen das HZV stark ab (ETT:  $4,47 \pm 0,26$  -

3,72±0,14 l/min;  $p<0,003$ ; ETH: 4,16±0,27 - 3,41±0,23 l/min;  $p<0,003$ ; Abbildung 7). In der Gruppe ETH steigt das HZV zum Zeitpunkt R1 (5 min nach Reperfusion) stark an



**Abbildung 6:** Herzzeitvolumen in Abhängigkeit von der Big-ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (BigT: n=17; BigH: n=16)

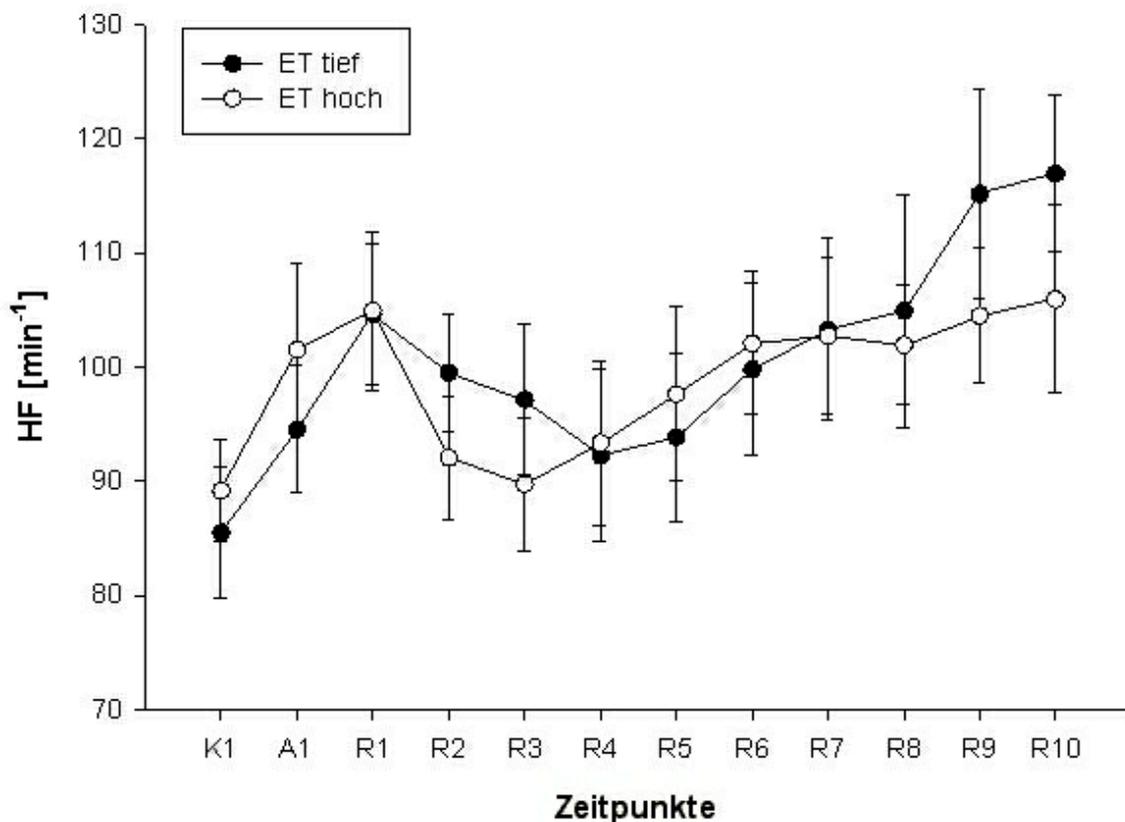
(4,46±0,40 l/min;  $p<0,001$ ), wogegen die Gruppe ETT einen Abfall im HZV besitzt (ETT: 3,59±0,36 l/min). Am nächsten Messpunkt (R2, 20 min nach Reperfusion) fällt das HZV der Gruppe ETH bereits wieder ab (3,936±0,31 l/min;  $p<0,05$ ) um am Messpunkt darauf wieder anzusteigen (R3, 35 min nach Reperfusion; 4,27±0,33 l/min;  $p<0,02$ ). Das HZV der anderen Gruppe bleibt vom Zeitpunkt 5 min nach Reperfusion (R1) bis kurz vor Beobachtungsende (R9, 5 h nach Reperfusion) konstant unter der Gruppe ETH (ETT: 3,59±0,36 - 4,08±0,46 l/min). 6 h nach Reperfusion (R10) fällt das HZV der Gruppe ETH deutlich ab (4,03±0,41 l/min;  $p<0,02$ ) und nähert sich damit wieder dem Wert der Gruppe ETT (ETT: 4,06±0,46 l/min).



**Abbildung 7:** Herzzeitvolumen in Abhängigkeit von der ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16)

### 3.3.2 Herzfrequenz (HF)

In beiden Gruppen steigt die HF vom Ausgangswert K1 bis zum Zeitpunkt A1 (ETT:  $85,5 \pm 5,8$  -  $94,6 \pm 5,6$   $\text{min}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ ; ETH:  $89,2 \pm 4,5$  -  $101,5 \pm 7,5$   $\text{min}^{-1}$ ;  $p < 0,04$ ; Abbildung 8) und weiter bis R1 (5 min nach Reperfusion; ETT:  $104,6 \pm 6,2$   $\text{min}^{-1}$ ;  $p < 0,02$ ; ETH:  $104,9 \pm 6,9$   $\text{min}^{-1}$ ) stark an. Sie fällt in der Gruppe ETH ( $92,1 \pm 5,4$   $\text{min}^{-1}$ ;  $p < 0,002$ ) anschließend deutlich stärker ab als in der Gruppe ETT ( $99,5 \pm 5,1$   $\text{min}^{-1}$ ). Lediglich zu den Messpunkten R4 - R6 (45 – 120 min nach Reperfusion) liegt die HF in der Gruppe ETT leicht unterhalb der anderen (ETT:  $92,3 \pm 7,5$  -  $99,8 \pm 7,6$   $\text{min}^{-1}$ ; ETH:  $93,4 \pm 7,2$  -  $102,1 \pm 6,2$   $\text{min}^{-1}$ ). Ab R7 ändert sich das wieder (ETT:  $103,3 \pm 8,0$   $\text{min}^{-1}$ ; ETH:  $102,7 \pm 6,9$   $\text{min}^{-1}$ ) und die HF der Gruppe ETT ist zum Zeitpunkt R10 deutlich über der der Gruppe ETH (ETT:  $116,9 \pm 6,8$   $\text{min}^{-1}$ ; ETH:  $105,9 \pm 8,2$   $\text{min}^{-1}$ ).

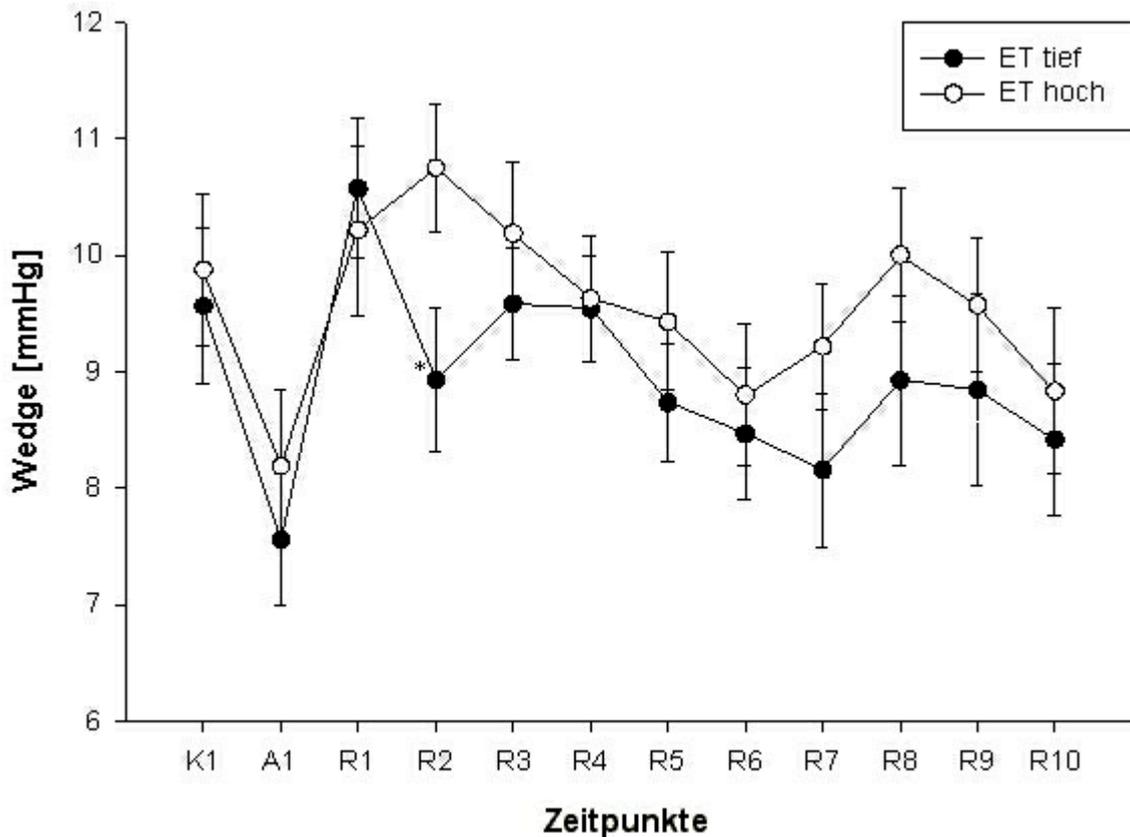


**Abbildung 8:** Herzfrequenz in Abhängigkeit von der ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16)

4 - 5 Stunden nach Reperfusion (R8 - R9) kommt es sogar noch zu einem signifikanten Anstieg der HF innerhalb der Gruppe ETT ( $104,9 \pm 10,2 - 115,2 \pm 9,2 \text{ min}^{-1}$ ;  $p < 0,04$ ). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sind zu keinem Zeitpunkt signifikant.

### 3.3.3 Wedge-Druck (PCWP)

Bei beiden Gruppen ist ein starker Abfall von K1 auf A1 (ETT:  $9,6 \pm 0,7 - 7,6 \pm 0,6 \text{ mmHg}$ ;  $p < 0,005$ ; ETH:  $9,9 \pm 0,7 - 8,2 \pm 0,7 \text{ mmHg}$ ;  $p < 0,05$ ; Abbildung 9) mit anschließendem sehr starkem Anstieg auf R1 (5 min nach Reperfusion) zu sehen (ETT:  $10,6 \pm 0,6 \text{ mmHg}$ ;  $p < 0,002$ ; ETH:  $10,2 \pm 0,7 \text{ mmHg}$ ;  $p < 0,002$ ). Am nächsten Messpunkt (R2, 20 min nach Reperfusion) fällt der Druck der ETT-Gruppe unter den Wert von K1 auf  $8,9 \pm 0,6 \text{ mmHg}$ , wogegen der Druck der anderen Gruppe noch weiter ansteigt ( $10,8 \pm 0,6 \text{ mmHg}$ ). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen ist hier signifikant ( $p < 0,05$ ).



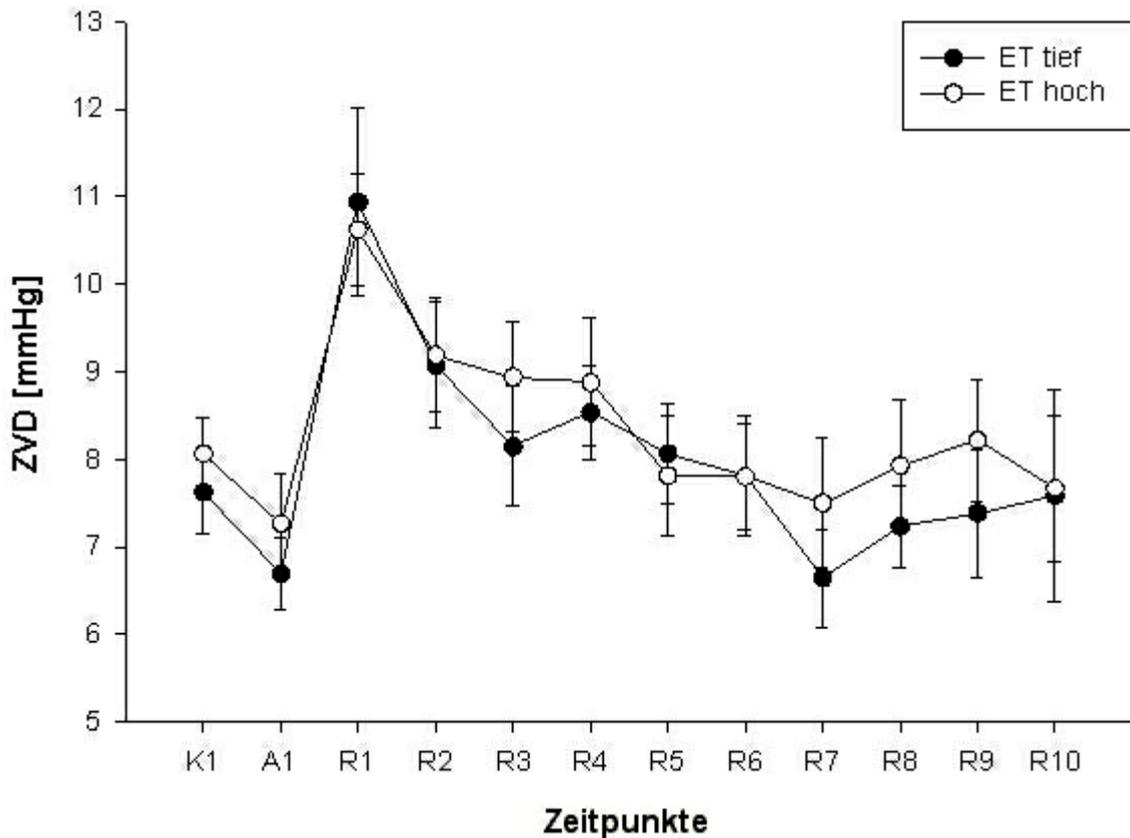
**Abbildung 9:** Wedge-Druck in Abhängigkeit von der ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16; \*p<0,05)

Im weiteren postoperativen Verlauf bleiben die Drücke der Gruppe ETT immer unter denjenigen der Gruppe ETH (ETT:  $9,6 \pm 0,5$  -  $8,2 \pm 0,7$  mmHg; ETH:  $10,2 \pm 0,6$  -  $8,8 \pm 0,6$  mmHg). Beide Gruppen haben bis zum Ende der Meßreihe einen ungefähr parallelen Verlauf.

### 3.3.4 Zentraler Venendruck (ZVD)

Vom Operationsbeginn (K1) zur anhepatischen Phase (A1) sinkt der ZVD in beiden Gruppen ab (ETT:  $7,6 \pm 0,5$  -  $6,7 \pm 0,4$  mmHg;  $p < 0,04$ ; ETH:  $8,1 \pm 0,4$  -  $7,3 \pm 0,6$  mmHg; Abbildung 10). Vom Ende der anhepatischen Phase zum Zeitpunkt A1 zum ersten Messpunkt 5 min nach Reperfusion (R1) steigt der ZVD in beiden Gruppen sehr stark an (ETT:  $6,7 \pm 0,4$  -  $10,9 \pm 1,1$  mmHg;  $p < 0,001$ ; ETH:  $7,3 \pm 0,6$  -  $10,6 \pm 0,6$  mmHg;  $p < 0,001$ ) um anschließend wieder deutlich abzufallen (ETT:  $9,1 \pm 0,7$  mmHg;  $p < 0,01$ ; ETH:  $9,2 \pm 0,6$  mmHg;  $p < 0,01$ ).

Im weiteren Verlauf bleiben die Drücke in der Gruppe ETH bis auf eine Ausnahme (R5, 1 h nach Reperfusion) über denen der Gruppe ETT (ETT R5:  $8,1 \pm 0,6$  mmHg; ETH R5:  $7,8 \pm 0,7$  mmHg).



**Abbildung 10:** Zentraler Venendruck in Abhängigkeit von der ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16)

Von R4 zu R5 (0,75 – 1 h nach Reperfusion) kommt es in der Gruppe ETH zu einem signifikanten Druckabfall ( $p < 0,01$ ). In der anderen Gruppe tritt dieser ebenfalls auf, allerdings etwas verzögert 2 – 3 h nach Reperfusion (R6 - R7;  $7,8 \pm 0,6$  -  $6,6 \pm 0,6$  mmHg;  $p < 0,02$ ) und wenig später, 4 h nach Reperfusion (R8), steigt der Druck wieder signifikant an (ETT:  $7,2 \pm 0,5$  mmHg;  $p < 0,04$ ).

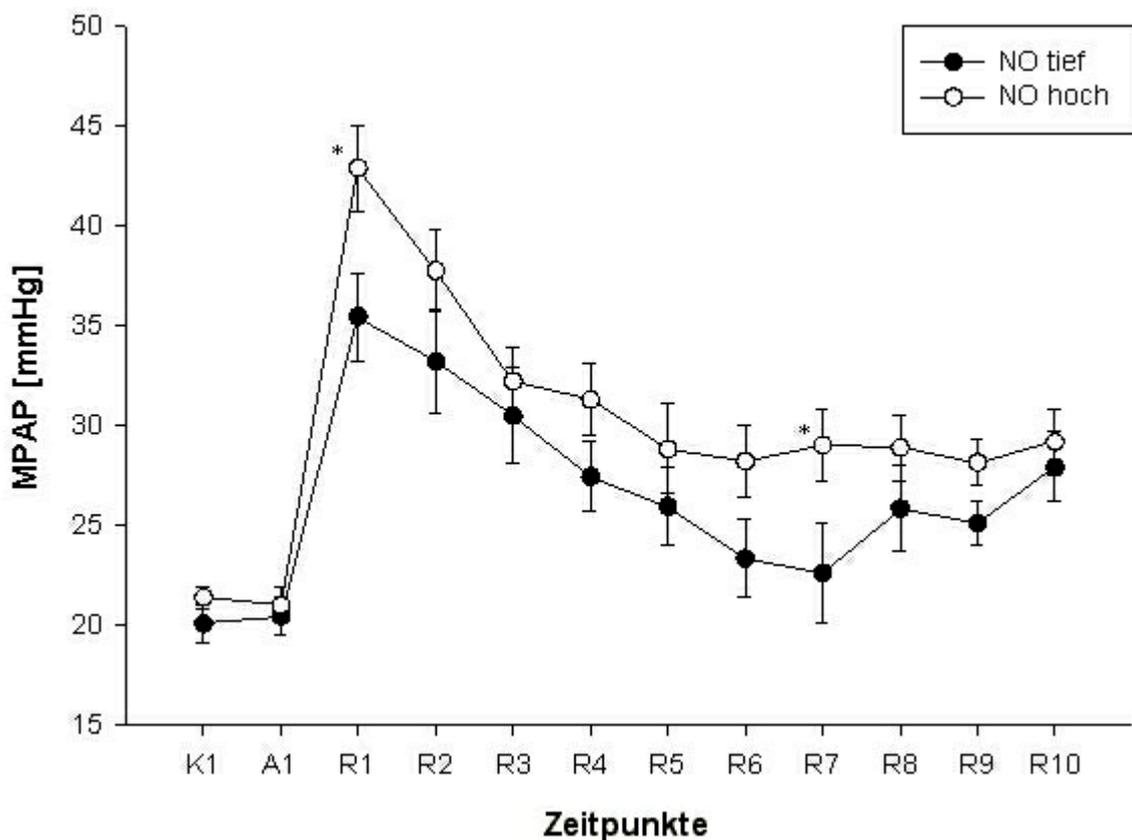
### 3.4 Korrelation von NO mit der Hämodynamik

Im folgenden wurde die Gruppenteilung wie bereits bekannt vorgenommen. Der Median zum Zeitpunkt R1, 5 min nach Reperfusion wurde benutzt, um die Versuchstiere in zwei Gruppen NO-hoch (Gruppe NO hoch) und NO-tief (Gruppe NO tief) einzuteilen. Die applizierte Menge von Noradrenalin (Arterenol®) in den

verschiedenen Gruppen war nicht signifikant unterschiedlich (NO tief:  $5 \pm 13 \mu\text{g/kg KG}$ ,  $136 \pm 370 \mu\text{g}$  absolut; NO hoch:  $3 \pm 8 \mu\text{g/kg KG}$ ,  $83 \pm 235 \mu\text{g}$  absolut).

### 3.4.1 Mittlerer Pulmonalarteriendruck (MPAP)

Diese steigt vom Ende der anhepatischen Phase (A1) zum ersten Messpunkt 5 min nach Reperfusion (R1) dramatisch an (NO-tief:  $20,4 \pm 0,9$  -  $35,4 \pm 2,2$  mmHg;  $p < 0,001$ ; NO-hoch:  $21,0 \pm 0,9$  -  $42,9 \pm 2,1$  mmHg;  $p < 0,001$ ; Abbildung 11). Die Gruppen unterscheiden sich zu diesem Zeitpunkt (R1) hochsignifikant ( $p < 0,01$ ).



**Abbildung 11:** Mittlerer Pulmonalarteriendruck in Abhängigkeit von der NO-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (NO-tief:  $n=17$ ; NO-hoch:  $n=16$ ;  $*p < 0,01$ )

Bis zum Messpunkt R6 fällt der MPAP in beiden Gruppen kontinuierlich, bleibt aber in der Gruppe NO-tief stets niedriger als in der Gruppe NO-hoch. Dabei gibt es in beiden Gruppen einige signifikante Abfälle. In der Gruppe NO-tief ist dies von R3 nach R4 (35 – 50 min nach Reperfusion;  $30,5 \pm 2,4$  -  $27,4 \pm 1,8$  mmHg;  $p < 0,04$ ) und von R4 nach R5 (65 min nach Reperfusion;  $25,9 \pm 2,0$  mmHg;  $p < 0,01$ ) der Fall. In der anderen Gruppe kommen diese Signifikanzen bereits früher vor. Im einzelnen von R1 nach R2

(5 – 20 min nach Reperfusion;  $42,9 \pm 2,1$  -  $37,7 \pm 2,1$  mmHg;  $p < 0,006$ ), von R2 nach R3 (35 min nach Reperfusion;  $32,2 \pm 1,7$  mmHg;  $p < 0,001$ ) und von R4 nach R5 (50 – 65 min nach Reperfusion;  $31,3 \pm 1,8$  -  $28,8 \pm 2,2$  mmHg;  $p < 0,01$ ).

Bei R7 (3 h nach Reperfusion) sind die Unterschiede zwischen beiden Gruppen wieder besonders ausgeprägt (NO-tief:  $22,6 \pm 2,5$  mmHg; NO-hoch:  $29,0 \pm 1,8$  mmHg;  $p < 0,01$ ).

Gegen Ende des Beobachtungszeitraumes (R10, 6 h nach Reperfusion) nähern sich die Gruppen wieder aneinander an, die Werte der Gruppe NO-hoch jedoch über denen der Gruppe NO-tief (NO-tief:  $27,9 \pm 1,7$  mmHg; NO-hoch:  $29,2 \pm 1,6$  mmHg).

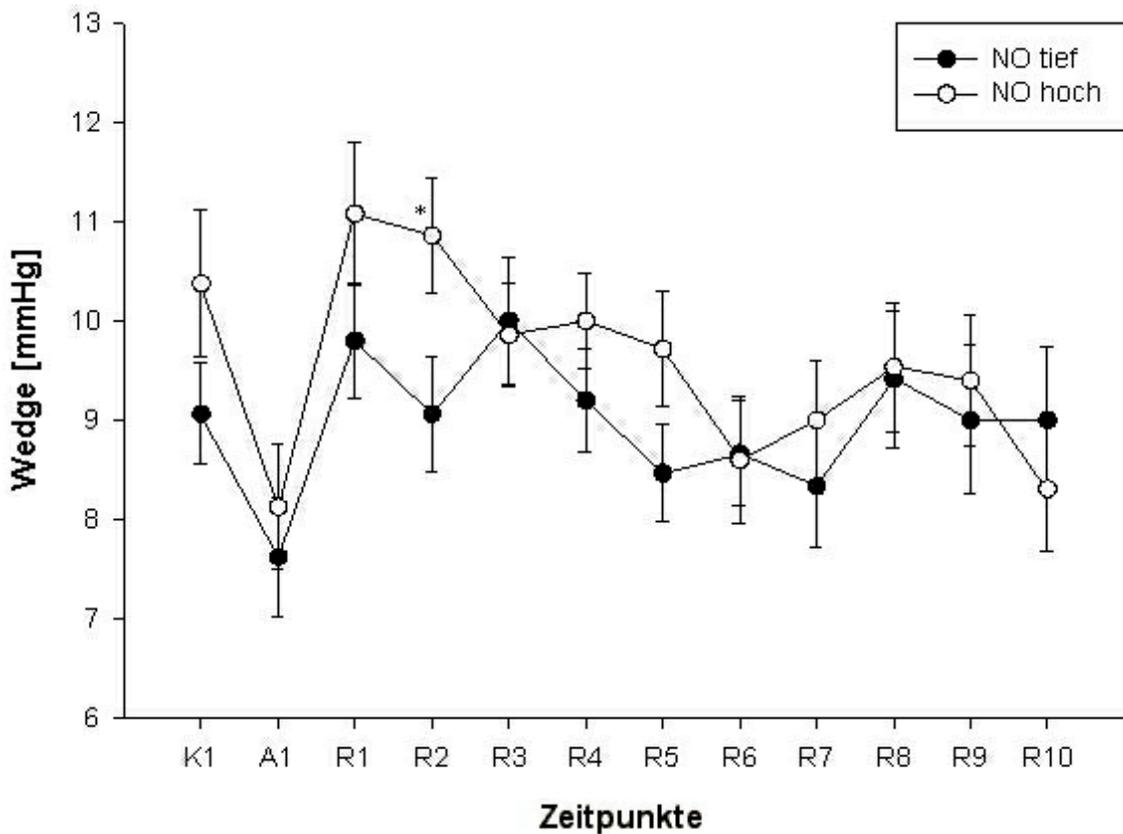
### 3.4.2 Wedge-Druck (PCWP)

Nicht nur der MPAP war im Zusammenhang mit der plasmatischen NO-Konzentration von Interesse, sondern auch der Zusammenhang zwischen dem Wedge-Druck und NO. Dieser wurde in Abbildung 12 dargestellt.

In beiden Gruppen fällt der Wedge-Druck vom OP-Beginn (K1) zur anhepatischen Phase (A1) hin stark ab (NO-tief:  $9,0 \pm 0,5$  -  $7,6 \pm 0,6$  mmHg;  $p < 0,03$ ; NO-hoch:  $10,4 \pm 0,7$  -  $8,1 \pm 0,6$  mmHg;  $p < 0,01$ ), um während der Reperfusion (R1) wieder stark anzusteigen (NO-tief:  $9,8 \pm 0,6$  mmHg;  $p < 0,005$ ; NO-hoch:  $11,1 \pm 0,7$  mmHg;  $p < 0,001$ ). Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen sind 20 Minuten nach Reperfusion (R2) am größten ( $p < 0,04$ ). Die Gruppe NO-hoch hat einen starken Druckabfall von R2 nach R3 (20 – 35 min nach Reperfusion;  $10,9 \pm 0,6$  -  $9,6 \pm 0,5$  mmHg;  $p < 0,04$ ) und von R5 nach R6 (65 – 125 min nach Reperfusion;  $9,7 \pm 0,6$  -  $8,6 \pm 0,6$  mmHg;  $p < 0,05$ ) sowie am Beobachtungsende, 305 – 365 min nach Reperfusion (R9 - R10;  $9,4 \pm 0,7$  -  $8,3 \pm 0,6$  mmHg;  $p < 0,04$ ).

Solche signifikanten Druckabfälle gibt es auch in der anderen Gruppe, allerdings zu anderen Zeitpunkten, nämlich 35 – 50 min nach Reperfusion (R3 - R4;  $10,0 \pm 0,5$  -  $9,2 \pm 0,5$  mmHg;  $p < 0,008$ ) und 50 – 65 min nach Reperfusion (R4 - R5;  $9,2 \pm 0,5$  -  $8,5 \pm 0,5$  mmHg;  $p < 0,04$ ).

35 min, 125 min und 245 min nach Reperfusion (R3, R6, R8) sind die Werte der beiden Gruppen praktisch identisch.



**Abbildung 12:** Wedge-Druck in Abhängigkeit von der NO-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (NO-tief: n=17; NO-hoch: n=16; \*p<0,05)

### 3.5 Reperfusionsschaden und die Plasmakonzentration von Big-ET / ET

#### 3.5.1 Transaminasen

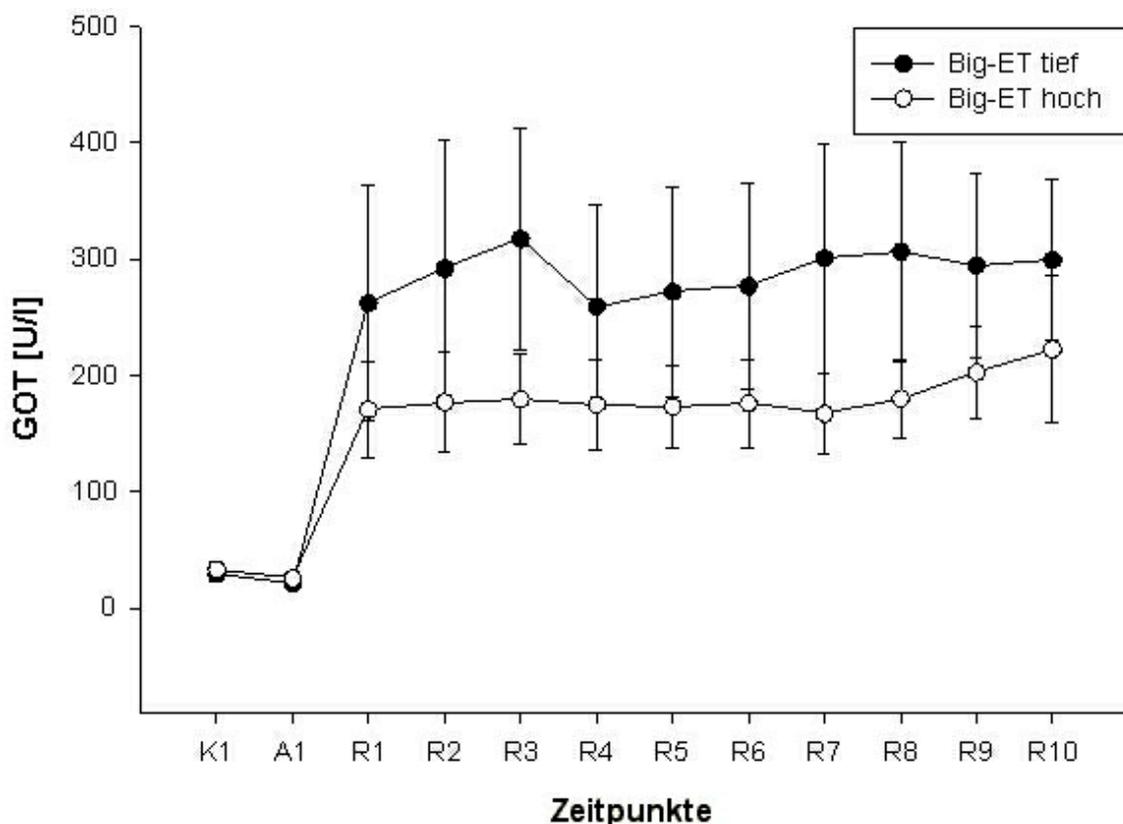
Zu den wichtigen laborchemischen Parametern zur Beurteilung der Leberfunktion beziehungsweise Leberschädigung gehören die Transaminasen (GOT, GPT). Wir wollten daher deren Zusammenhang mit Endothelin, beziehungsweise dessen Vorstufe Big-Endothelin graphisch aufzeigen.

### 3.5.1.1 Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Big-ET

Beide Gruppen haben einen deutlichen Anstieg der GOT von A1 (anhepatische Phase) nach R1 (5 min nach Reperfusion; BigT:  $21,5 \pm 6,0$  -  $262,0 \pm 100,4$  U/l;  $p < 0,001$ ; BigH:  $25,5 \pm 6,7$  -  $170,5 \pm 41,7$  U/l;  $p < 0,001$ ; Abbildung 13).

BigT hat noch einen weiteren signifikanten Anstieg von R1 nach R2 (20 min nach Reperfusion;  $291,7 \pm 111,0$  U/l;  $p < 0,05$ ).

Über den gesamten Zeitraum nach Reperfusion R1 - R10 (5 – 365 min nach Reperfusion) bleibt die Gruppe BigT deutlich über der Gruppe BigH, welche sehr konstant auf einem Niveau bleibt (BigT:  $259,3 \pm 86,4$  -  $317,1 \pm 95,6$  U/l; BigH:  $170,5 \pm 41,7$  -  $222,3 \pm 63,0$  U/l).



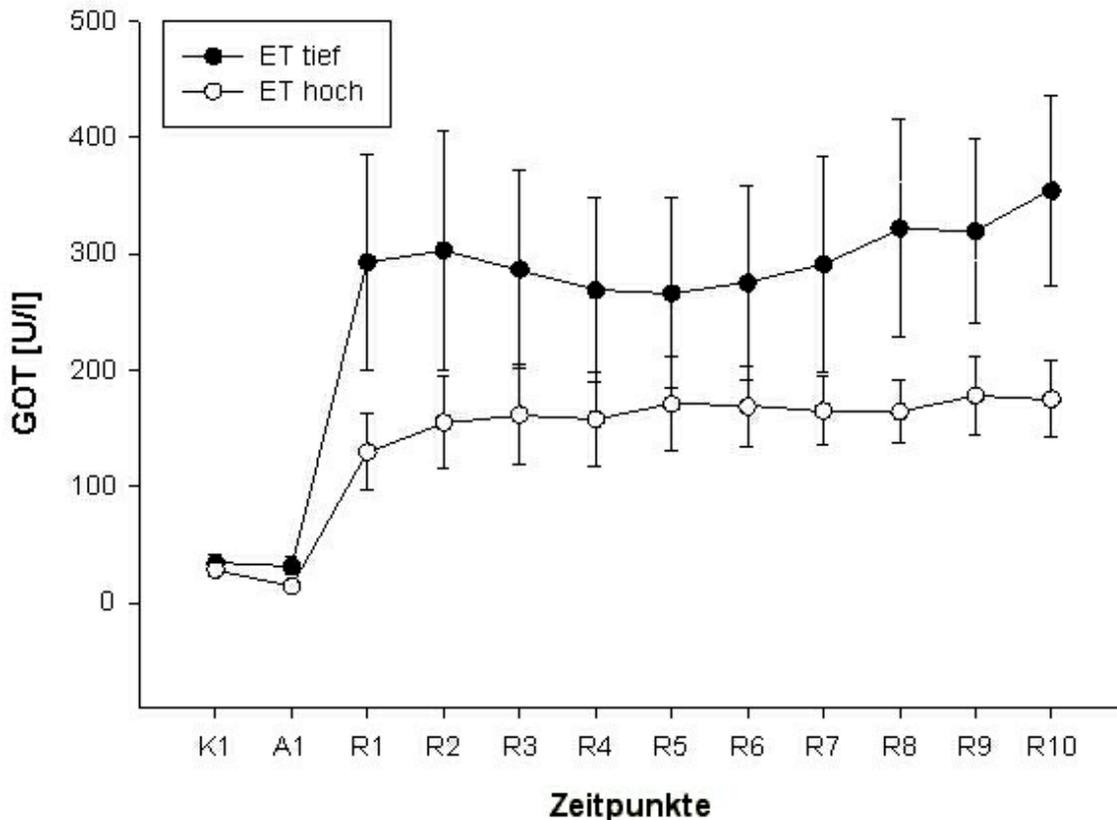
**Abbildung 13:** Aktivität der GOT in Abhängigkeit von der Big-ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (BigT: n=17; BigH: n=16)

### 3.5.1.2 Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und ET

Wie bei der Vorstufe Big-ET gibt es bei ET im Zusammenhang mit GOT einen signifikanten Anstieg beider Gruppen von A1 (anhepatische Phase) nach R1 (5 min

nach Reperfusion; ETT:  $31,8 \pm 7,6$  -  $292,5 \pm 92,9$  U/l;  $p < 0,001$ ; ETH:  $14,2 \pm 1,0$  -  $129,8 \pm 32,8$  U/l;  $p < 0,001$ ; Abbildung 14).

Die Gruppe ETH zeigt einen weiteren Anstieg der GOT von R1 auf R2 (5 – 20 min nach Reperfusion;  $129,8 \pm 32,8$  -  $155,2 \pm 39,4$  U/l;  $p < 0,001$ ). Dennoch bleibt diese Gruppe nach der Reperfusion im ganzen Beobachtungszeitraum immer deutlich unter der Gruppe ETT (ETT:  $266,2 \pm 82,2$  -  $354,0 \pm 81,0$  U/l; ETH:  $129,8 \pm 32,8$  -  $178,3 \pm 33,4$  U/l).

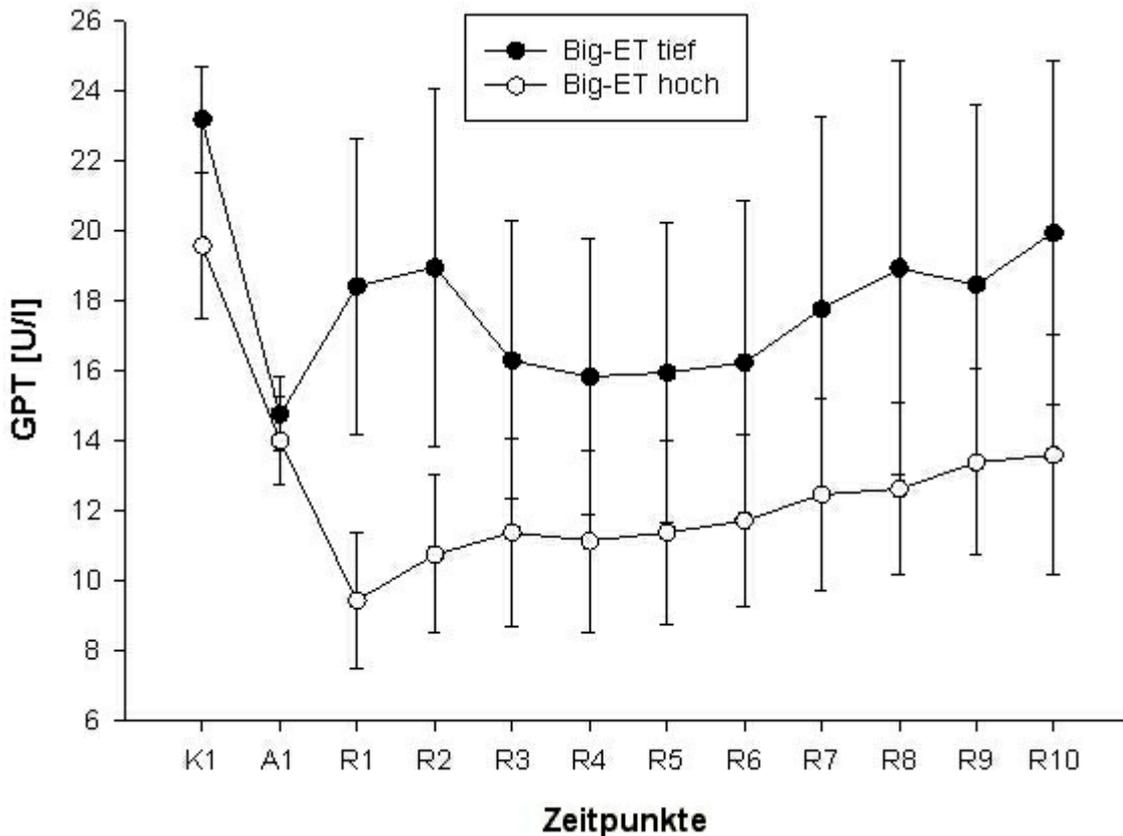


**Abbildung 14:** Aktivität der GOT in Abhängigkeit von der ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16)

### 3.5.1.3 Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und Big-ET

Bei der BigT-Gruppe, sowie bei der BigH-Gruppe ist ein hochsignifikanter Abfall der GPT-Aktivität von K1 nach A1 zu sehen (BigT:  $23,2 \pm 1,5$  -  $14,8 \pm 1,1$  U/l;  $p < 0,001$ ; BigH:  $19,6 \pm 2,1$  -  $14,0 \pm 1,3$  U/l;  $p < 0,001$ ; Abbildung 15). Dieser setzt sich in der BigH-Gruppe zum nächsten Messpunkt (R1) hin nochmals fort ( $9,4 \pm 1,9$  U/l), wogegen die andere Gruppe wieder einen Anstieg der Aktivität zu verzeichnen hat ( $18,4 \pm 4,2$  U/l). Die Gruppe BigT hat einen deutlichen Aktivitätsabfall von R2 nach R3 ( $18,9 \pm 5,1$  -

16,3±4,0 U/l), bleibt aber dennoch deutlich über den Werten der Gruppe BigH (R3: 11,4±2,7 U/l). Beide Gruppen haben einen sanften, mehr oder minder parallelen Anstieg bis zum Beobachtungsende (R4 - R10: BigT: 15,8±3,9 - 19,9±4,9 U/l; BigH: 11,1±2,6 - 13,6±3,4 U/l).



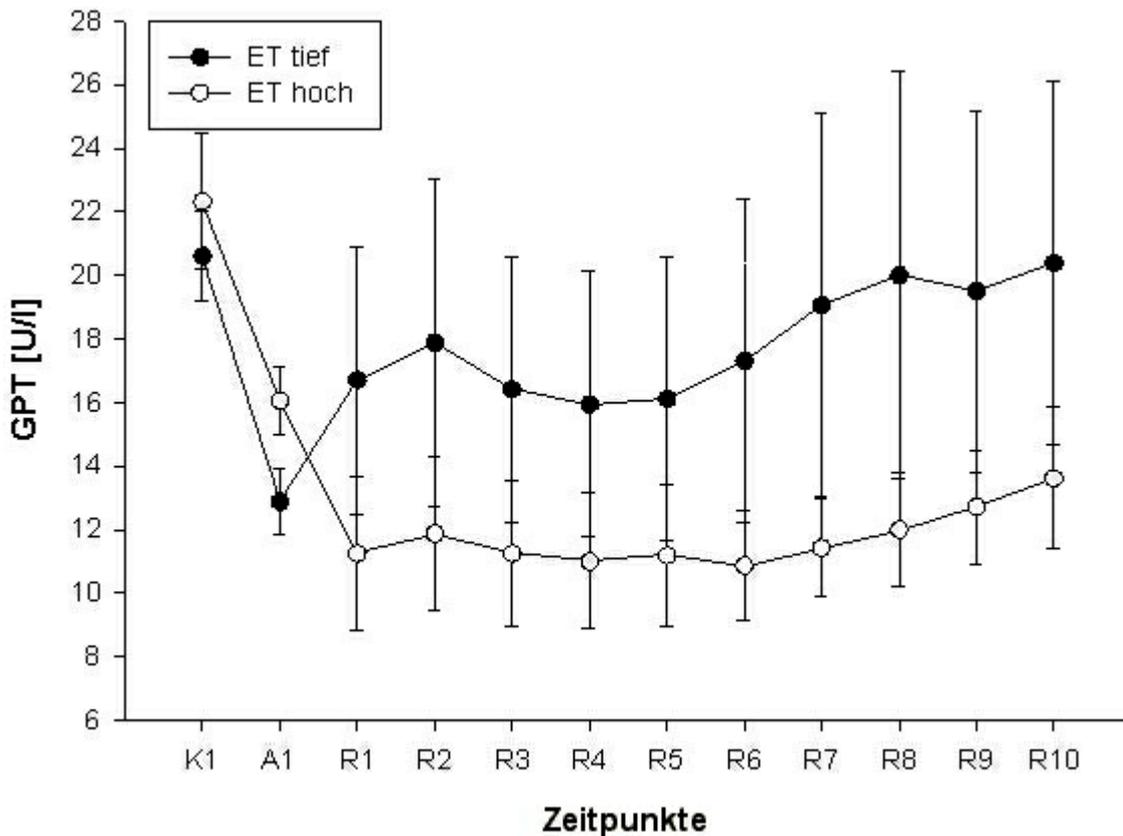
**Abbildung 15:** Aktivität der GPT in Abhängigkeit von der Big-ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (BigT: n=17; BigH: n=16)

### 3.5.1.4 Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und ET

Beide Gruppen besitzen vom OP-Beginn (K1) bis zur anhepatischen Phase (A1) einen deutlichen Abfall der Aktivität der GPT (ETT: 20,6±1,5 - 12,8±1,1 U/l;  $p < 0,001$ ; ETH: 22,3±2,1 - 16,1±1,1 U/l;  $p < 0,002$ ; Abbildung 16).

Während die Gruppe ETT zum ersten Messpunkt 5 min nach Reperfusion (R1) wieder ansteigt (16,7±4,2 U/l), fällt die Gruppe ETH weiter ab (11,3±2,4 U/l;  $p < 0,02$ ).

Für den übrigen Beobachtungszeitraum (R2 - R10; 20 – 365 min nach Reperfusion) sind die Meßwerte für die Gruppe ETT deutlich über denen der anderen Gruppe (ETT: 15,9±4,2 - 20,4±5,7 U/l; ETH: 10,9±1,7 - 13,6±2,2 U/l).



**Abbildung 16:** Aktivität der GPT in Abhängigkeit von der ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16)

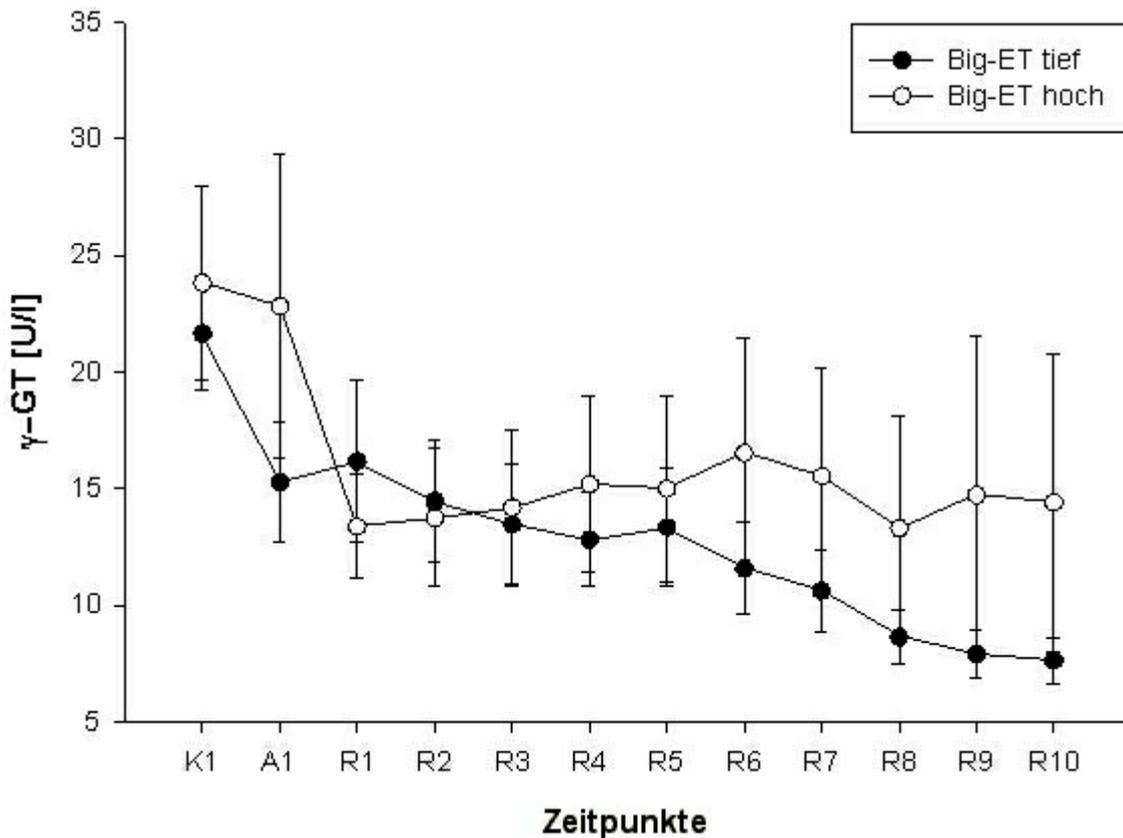
### 3.5.2 $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT)

Die  $\gamma$ -GT ist ein zytoplasmatisches Leberenzym, welches bereits bei geringem Leberzellschaden erhöht ist. Daher soll ihr Zusammenhang mit Big-ET beziehungsweise mit ET geklärt werden.

#### 3.5.2.1 $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT) und Big-ET

Der Zusammenhang zwischen der  $\gamma$ -GT und Big-ET ist in Abbildung 17 dargestellt. Beide Gruppen haben in dieser Darstellung einen signifikanten Aktivitätsabfall von K1 nach A1 (BigT:  $26,6 \pm 2,5$  -  $15,3 \pm 2,6$  U/l;  $p < 0,001$ ; BigH:  $23,8 \pm 4,2$  -  $22,8 \pm 6,5$  U/l;  $p < 0,001$ ; Abbildung 17). Beim nächsten Messpunkt (R1) hat die Gruppe BigH einen weiteren Abfall, wogegen in der Gruppe BigT ein Aktivitätsanstieg zu verzeichnen ist

(BigT:  $16,2 \pm 3,4$  U/l; BigH:  $13,4 \pm 2,2$  U/l). Im weiteren Verlauf hat die Gruppe BigH



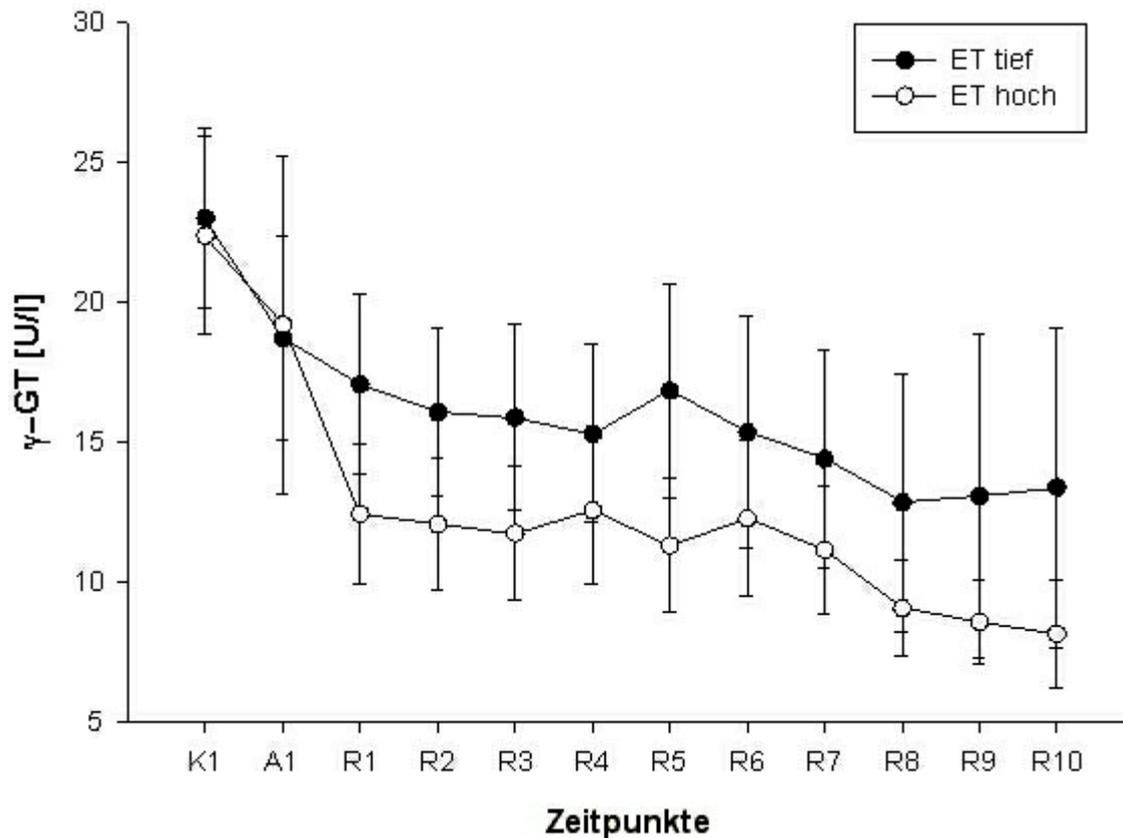
**Abbildung 17:** Aktivität der  $\gamma$ -GT in Abhängigkeit von der Big-ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (BigT: n=17; BigH: n=16)

einen leichten Anstieg der Aktivität bis zum Messpunkt R6 ( $16,5 \pm 4,9$  U/l) und fällt dann bis zum Versuchsende mit leichten Schwankungen leicht ab (R10:  $14,4 \pm 6,4$  U/l). Die andere Gruppe zeigt einen fast konstanten Aktivitätsabfall bis zum Versuchsende (R2:  $14,5 \pm 2,6$  U/l; R10:  $7,6 \pm 1,0$  U/l).

### 3.5.2.2 $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT) und ET

Beide Gruppen besitzen einen signifikanten Abfall der Enzymaktivität vom OP-Beginn (K1) zur anhepatischen Phase (A1) hin (ETT:  $23,0 \pm 3,2$  -  $18,7 \pm 3,6$  U/l;  $p < 0,04$ ; ETH:  $22,4 \pm 3,5$  -  $19,2 \pm 6,0$  U/l;  $p < 0,002$ ; Abbildung 18). ETH zeigt einen weiteren sehr starken Abfall nach R1 (5 min nach Reperfusion;  $12,4 \pm 2,5$  U/l;  $p < 0,02$ ). Im weiteren

Verlauf (R2 - R10; 20 – 365 min nach Reperfusion) bleibt diese Gruppe immer unter



**Abbildung 18:** Aktivität der  $\gamma$ -GT in Abhängigkeit von der ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16)

den Werten, welche bei der Gruppe ETT gemessen werden können (ETT:  $12,8 \pm 4,6 - 16,1 \pm 3,0$  U/l; ETH:  $8,2 \pm 1,9 - 12,6 \pm 2,7$  U/l). In der Gruppe ETT läßt sich noch ein signifikanter Abfall von R6 nach R7 (125 – 185 min nach Reperfusion;  $15,4 \pm 4,1 - 14,4 \pm 3,9$  U/l;  $p < 0,05$ ) aufzeigen.

In der Gruppe ETH kommt es zu einem signifikanten Anstieg von R3 nach R4 (35 – 50 min nach Reperfusion;  $11,8 \pm 2,4 - 12,6 \pm 2,7$  U/l;  $p < 0,04$ ). Abgesehen von einer einzelnen Schwankung sinkt die Aktivität bis zum Versuchsende hin teils signifikant ab (R7, 185 min nach Reperfusion;  $11,1 \pm 2,3$  U/l;  $p < 0,04$  und R8, 245 min nach Reperfusion;  $9,1 \pm 1,7$  U/l;  $p < 0,005$ ).

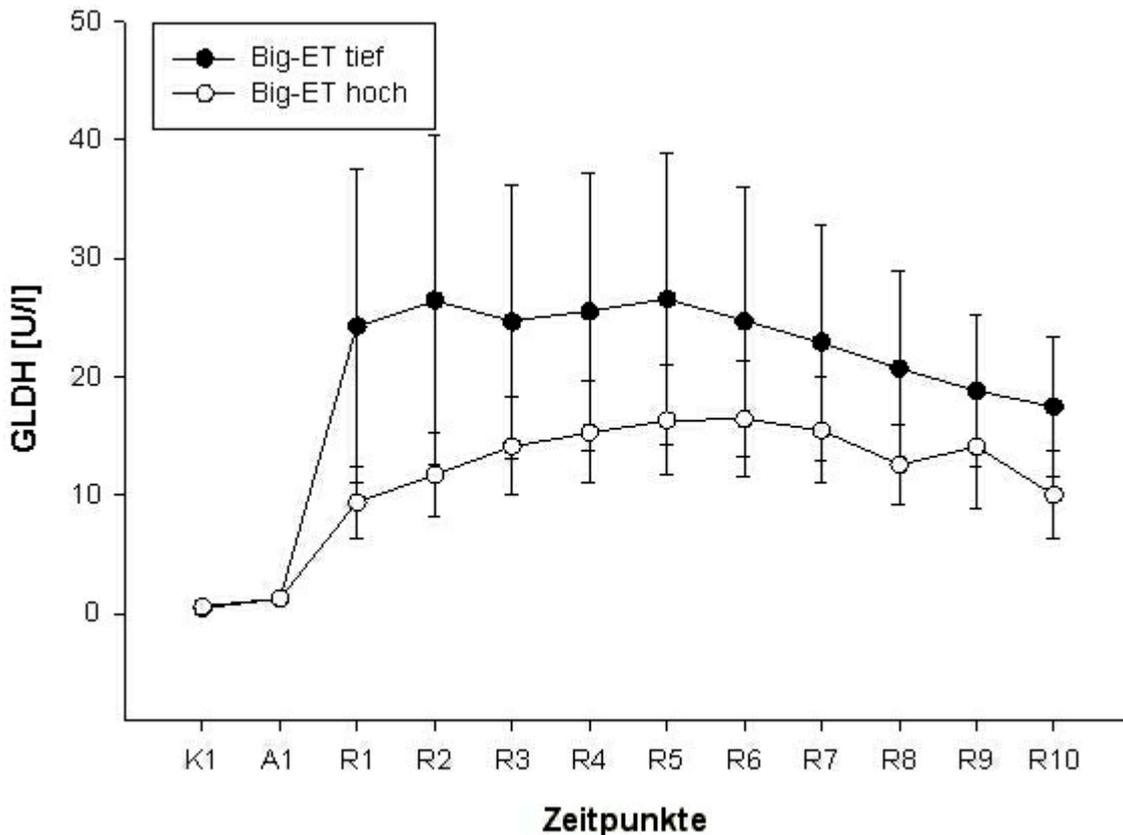
### 3.5.3 Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)

Die GLDH ist bei schwerem Leberzellschaden im Plasma erhöht. Daher dient sie als wichtiger Parameter zur Beurteilung der Lebervitalität nach Lebertransplantation.

Es war daher von Interesse, ob dieses Enzym einen Zusammenhang mit ET, beziehungsweise dessen Vorstufe Big-ET besitzt.

### 3.5.3.1 Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) und Big-ET

Bis zum Messpunkt A1 unterscheiden sich beide Gruppen praktisch nicht. Das ändert

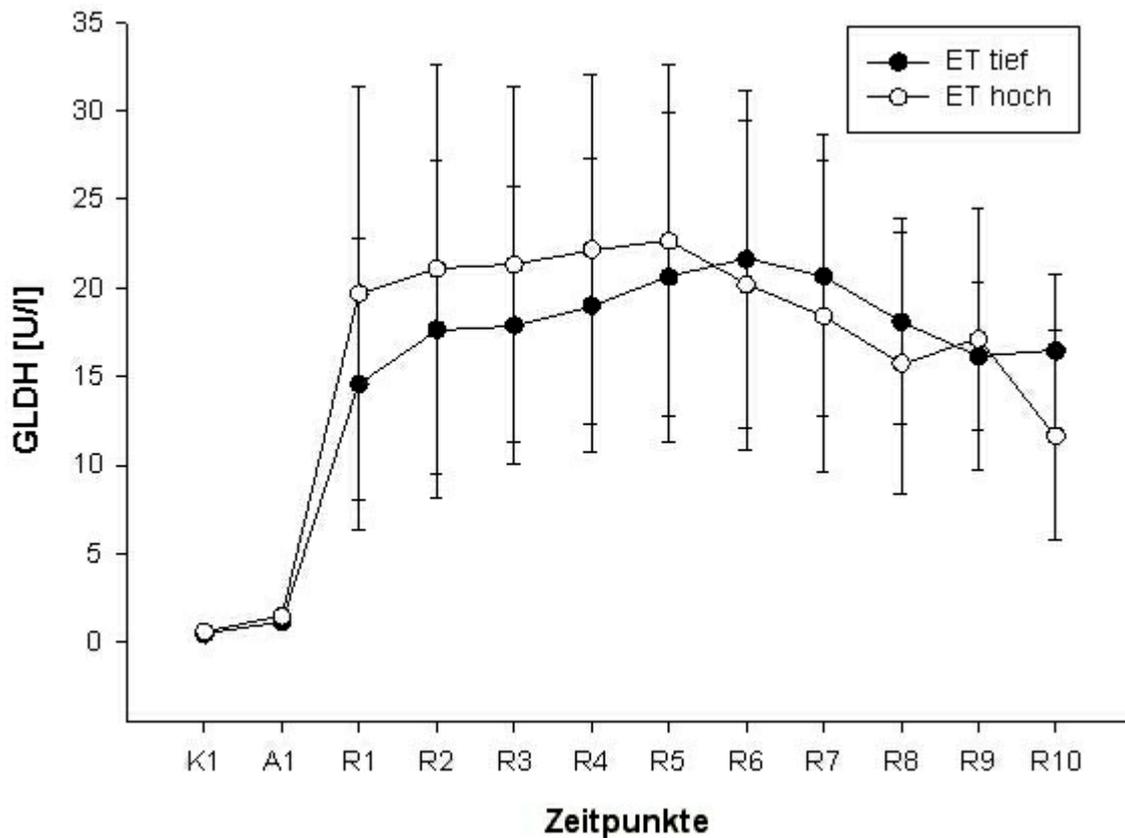


**Abbildung 19:** Aktivität der GLDH in Abhängigkeit von der Big-ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (BigT: n=17; BigH: n=16)

sich aber deutlich beim Zeitpunkt R1 (BigT:  $24,3 \pm 13,2$  U/l;  $p < 0,001$ ; BigH:  $9,4 \pm 3,9$  U/l;  $p < 0,001$ ; Abbildung 19). Die Gruppe BigT bleibt bis zum Versuchsende gegenüber der Vergleichsgruppe BigH erhöht, steigt noch einmal signifikant zum Zeitpunkt R2 an ( $26,5 \pm 13,9$  U/l;  $p < 0,02$ ) und fällt ab R5, dem Meßpunkt der höchsten Aktivität ab (R5:  $26,6 \pm 12,3$  U/l, R10:  $17,5 \pm 5,9$  U/l). Die Gruppe BigH steigt in ihrer Aktivität bis zum Zeitpunkt R6 der auch ihr höchster Meßwert ist ( $16,3 \pm 4,6$  U/l) zum Teil signifikant an (nach R2:  $11,7 \pm 3,5$  U/l;  $p < 0,01$ ) und fällt, abgesehen vom Messpunkt R9 ( $14,1 \pm 5,2$  U/l) kontinuierlich bis zum Ende hin ab (R10:  $10,0 \pm 3,7$  U/l).

### 3.5.3.2 Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) und ET

Hier zeigt sich anfangs ein ähnliches Bild wie in der vorherigen Abbildung. Bei A1 und K1 sind beide Gruppen fast auf gleichem Niveau und steigen dann in Ihrer Aktivität



**Abbildung 20:** Aktivität der GLDH in Abhängigkeit von der ET-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (ETT: n=17; ETH: n=16) stark an (ETT A1 - R1:  $1,1 \pm 0,3 - 14,6 \pm 8,2$  U/l;  $p < 0,001$ ; ETH A1 - R1:  $1,4 \pm 0,3 - 19,7 \pm 11,7$  U/l;  $p < 0,001$ ; Abbildung 20). Bis zum Zeitpunkt R5 ist die Aktivität der Gruppe ETH höher als die von ETT und hat hier ihr Aktivitätsmaximum ( $22,6 \pm 9,9$  U/l). Die Vergleichsgruppe ETT hat ihr Maximum eine Stunde später ( $21,6 \pm 9,5$  U/l). Sie fällt kontinuierlich bis R9 ab. Bei der Gruppe ETH gibt es einen kontinuierlichen Abwärtstrend bis zum Messpunkt R8 ( $15,6 \pm 7,4$  U/l), dann steigt der Wert wieder bei R9 ( $17,1 \pm 7,4$  U/l) um dann zum Ende wieder weiter abzusinken ( $11,7 \pm 5,9$  U/l).

### **3.6 Reperfusionsschaden und NO**

Wie bereits in der Einleitung geschildert, spielt NO in der Pathophysiologie des Reperfusionsschadens eine erhebliche Rolle. Daher soll sein Zusammenhang mit einigen wichtigen Leberenzymen näher beleuchtet werden.

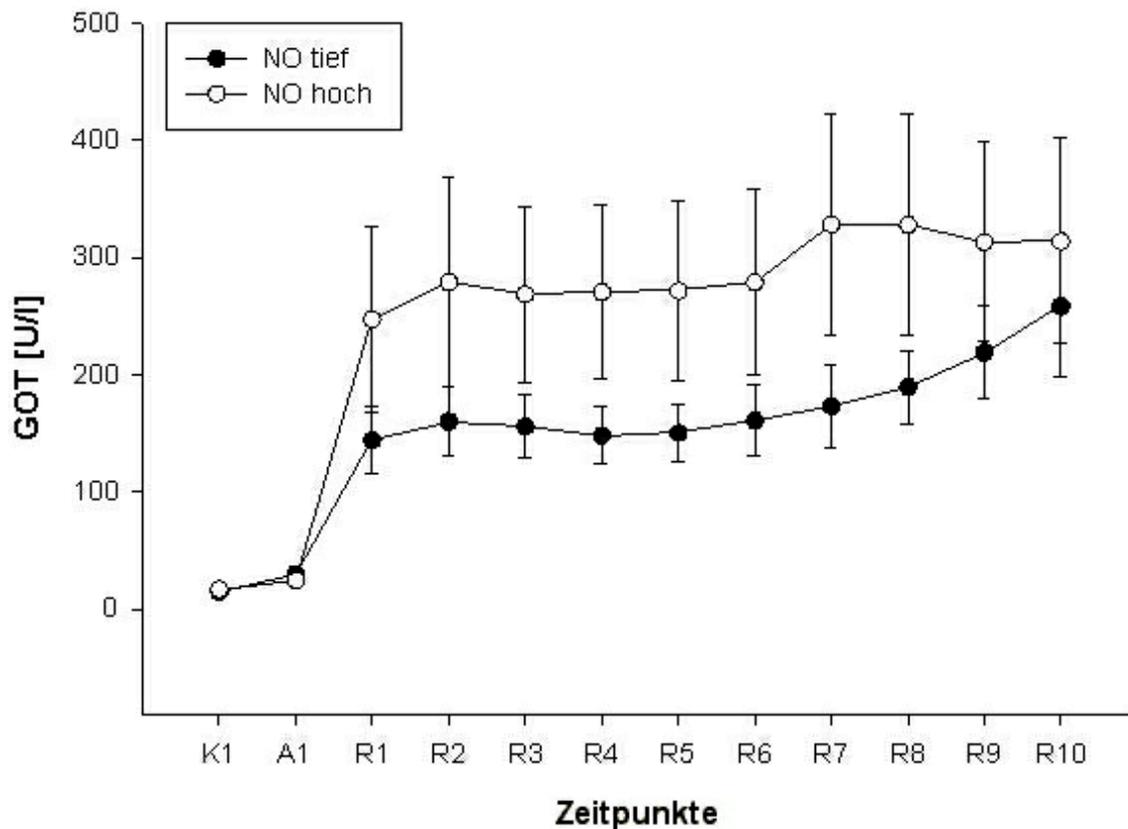
Die Versuchstiere wurden am Median des Zeitpunktes R1 (5 min nach Reperfusion) in zwei Gruppen, NO-tief (Gruppe NOT) und NO-hoch (Gruppe NOH) unterteilt.

#### **3.6.1 Transaminasen**

Wie bereits in Kapitel 3.5.1 erwähnt, gehören die Transaminasen (GOT, GPT) zu den wichtigen laborchemischen Parametern zur Beurteilung der Leberfunktion. Da bereits von anderen Arbeitsgruppen ein Zusammenhang zwischen verminderter NO-Produktion und erhöhten Transaminasen beschrieben wurde (162,196) wollten wir überprüfen, ob sich dies bei uns bestätigen würde.

##### **3.6.1.1 Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und NO**

Auch in dieser Grafik ist ein signifikanter Anstieg beider Gruppen von der anhepatischen Phase (A1) hin zum ersten Messpunkt 5 min nach Reperfusion (R1) zu beobachten (NOT:  $29,8 \pm 7,1$  -  $144,1 \pm 28,7$  U/l;  $p < 0,001$ ; NOH:  $24,7 \pm 4,6$  -  $247,2 \pm 79,5$  U/l;  $p < 0,001$ ; Abbildung 21). NOT zeigt von R2 bis R6 kaum eine Änderung ( $160,1 \pm 29,1$  -  $160,9 \pm 30,5$  U/l) und steigt dann zum Versuchsende hin

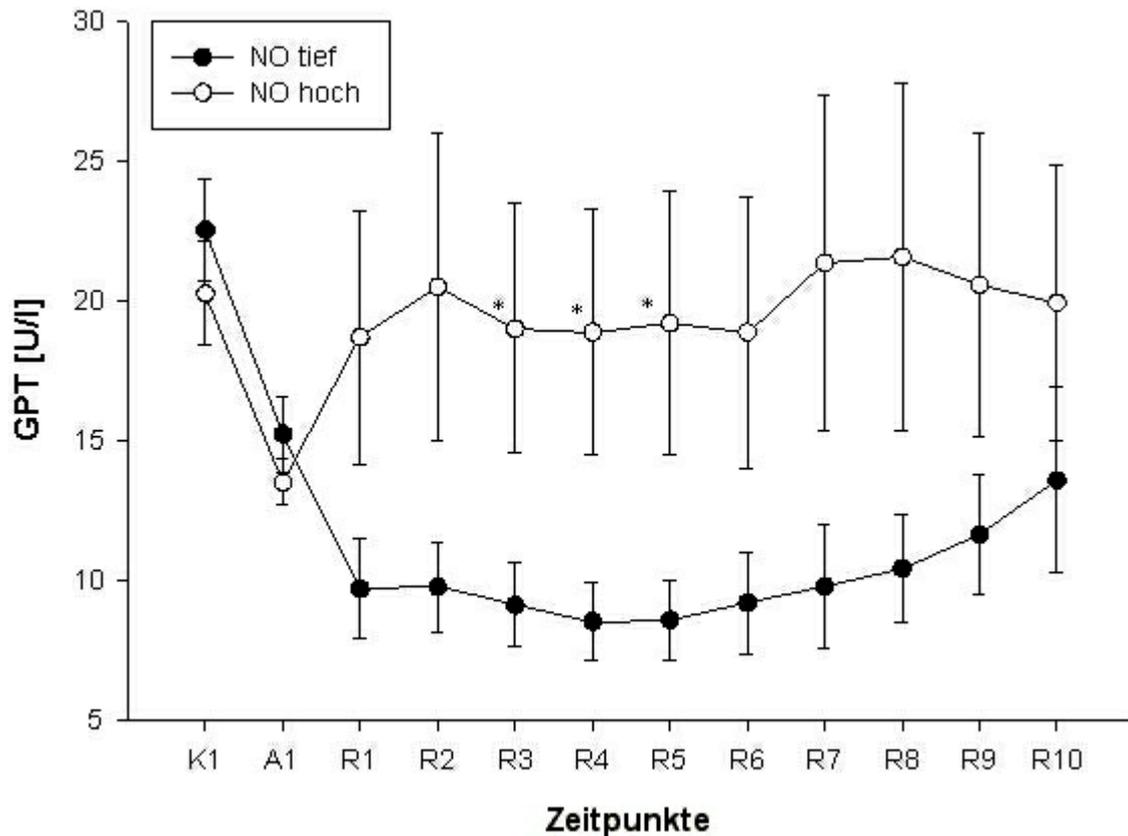


**Abbildung 21:** Aktivität der GOT in Abhängigkeit von der NO-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (NOT: n=17; NOH: n=16)

nochmals leicht an (R10:  $258,3 \pm 60,2$  U/l). Die Gruppe NOH läßt sich ein ähnliches Bild von R2 bis R6 nachweisen ( $278,9 \pm 88,5$  -  $278,6 \pm 79,2$  U/l). Dann steigt die Aktivität zu R7 hin an ( $328,1 \pm 94,8$  U/l) und bleibt bis zum Beobachtungsende auf diesem Level (R10:  $313,6 \pm 87,6$  U/l).

### 3.6.1.2 Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und NO

Vom OP-Beginn (K1) bis zur anhepatischen Phase (A1) haben beide Gruppen einen deutlichen Aktivitätsabfall, der sich bei der Gruppe NOT bis 5 min nach Reperfusion fortsetzt (R1) und sich in der anderen Gruppe zu diesem Zeitpunkt teilkompensiert (K1 - A1 - R1; NOT:  $22,5 \pm 1,8$  -  $15,2 \pm 1,4$  -  $9,7 \pm 1,8$  U/l; NOH:  $20,3 \pm 1,7$  -  $13,5 \pm 0,8$  -  $18,7 \pm 4,5$  U/l; K1 - A1;  $p < 0,001$  in beiden Gruppen; Abbildung 22). Der Trend nach



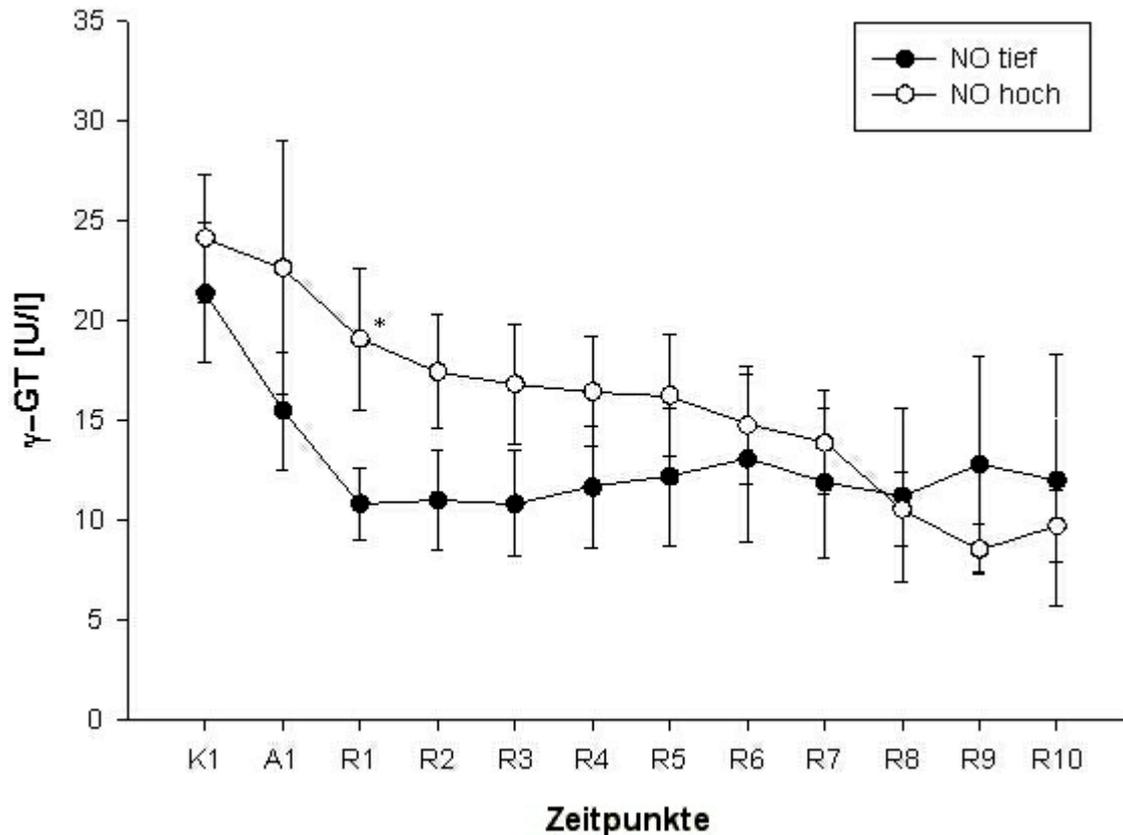
**Abbildung 22:** Aktivität der GPT in Abhängigkeit von der NO-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (NOT: n=17; NOH: n=16; \*p<0,05)

oben setzt sich in der Gruppe NOH bis zum nächsten Messpunkt fort (R2: 20,5±5,5 U/l), die Vergleichsgruppe bleibt hier in etwa auf ihrem Level (R2: 9,8±1,6 U/l). Zu den Messpunkten R3 - R5 sind die Unterschiede der Gruppen signifikant. Ab R4 steigt die Aktivität in der Gruppe NOT an (R4: NOT: 8,5±1,3 U/l; NOH: 18,9±4,4 U/l), doch die Aktivitäten sind auch gegen Ende des Beobachtungszeitraumes (R10) in deutlich unterschiedlichen Wertebereichen (R10: NOT: 13,6±3,3 U/l; NOH: 19,9±5,0 U/l).

### 3.6.2 $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT) und NO

Die Aktivität der  $\gamma$ -GT in der Gruppe NOH startet bei K1 auf einem etwas höheren Niveau als in der Gruppe NOT (NOT: 21,4±3,5 U/l; NOH: 24,1±3,2 U/l; Abbildung 23). Der Aktivitätsabfall nach A1 ist in beiden Gruppen signifikant (NOT: 15,5±2,9 U/l; p<0,001; NOH: 22,6±6,3 U/l; p<0,001). Dies setzt sich fort und die Gruppenunterschiede sind zum Zeitpunkt R1 signifikant (NOT: 10,8±1,8 U/l;

NOH:  $19,1 \pm 3,5$  U/l). Bis zum Messpunkt R7 nähern sich beide Gruppen immer mehr einander an und ab R8 ist die Gruppe NOT diejenige mit der höheren Aktivität (R7 - R8: NOT:  $11,9 \pm 3,8$  -  $11,2 \pm 4,3$  U/l; NOH:  $13,6 \pm 2,6$  -  $10,5 \pm 1,9$  U/l).

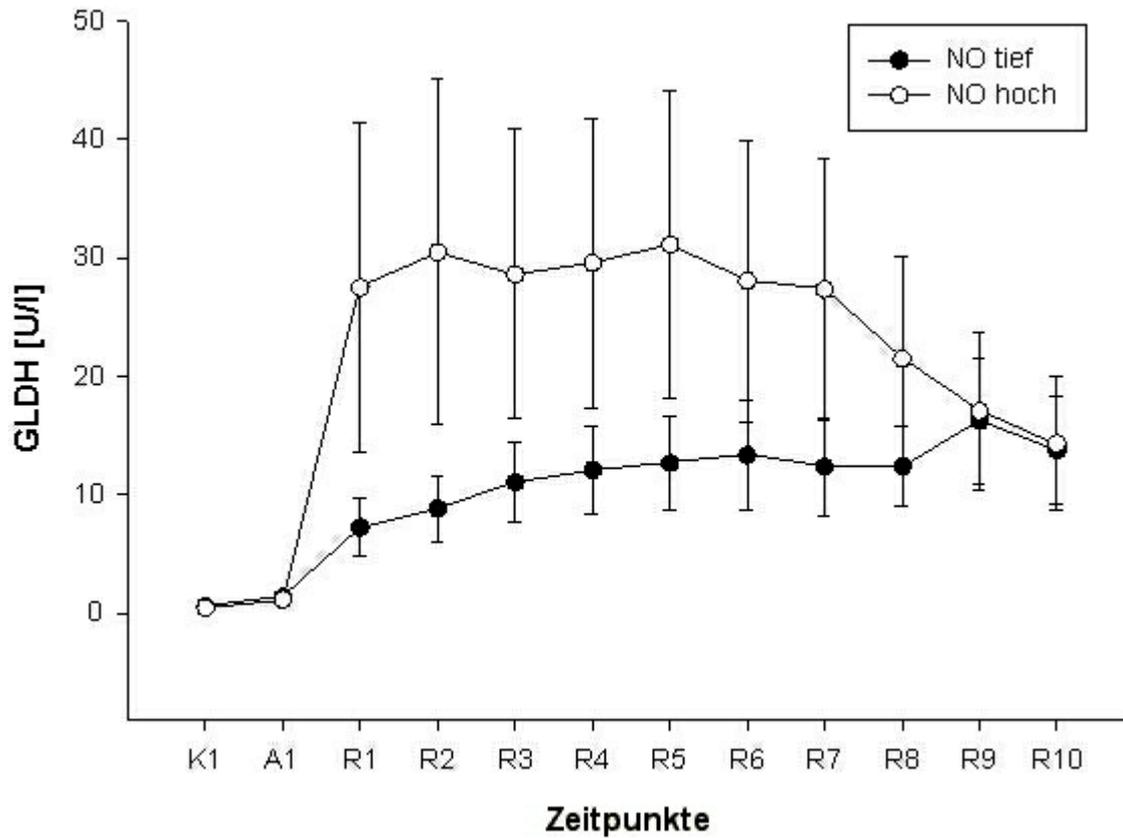


**Abbildung 23:** Aktivität der  $\gamma$ -GT in Abhängigkeit von der NO-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (NOT: n=17; NOH: n=16; \*p<0,05)

### 3.6.3 Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) und NO

Bis einschließlich zur anhepatischen Phase (A1), verlaufen beide Gruppen auf einem etwa gleichen Aktivitätsniveau (K1 - A1: NOT:  $0,6 \pm 0,1$  -  $1,4 \pm 0,3$  U/l; NOH:  $0,5 \pm 0,1$  -  $1,2 \pm 0,3$  U/l; Abbildung 24). Dann erfolgt in beiden Gruppen 5 min nach Reperfusion (R1) ein Aktivitätsanstieg, der bei der Gruppe NOH sehr viel stärker ausgeprägt ist (NOT:  $7,2 \pm 2,5$  U/l; p<0,001; NOH:  $27,5 \pm 13,9$  U/l; p<0,001). NOT bewegt sich von R2 bis R8 im relativ engen Rahmen zwischen  $8,8 \pm 2,7$  U/l und  $13,3 \pm 4,6$  U/l und hat nochmals zwei weitere signifikante Anstiege, von R1 nach R2 (p<0,03) und von R2 nach R3 (p<0,003). NOH zeigt ab R5 einen kontinuierlichen Abfall der GLDH-Aktivitäten bis einschließlich R10 (R5 - R10:  $31,1 \pm 12,9$  -  $14,3 \pm 5,7$  U/l), welcher ab R6

stets signifikant ist (R6 - R7:  $p < 0,02$ ; R7 - R8:  $p < 0,001$ ; R8 - R9:  $p < 0,003$ ; R9 - R10:  $p < 0,005$ ). Zum Versuchsende hin nähern sich die Meßwerte beider Gruppen einander an (R9: NOT:  $16,2 \pm 5,3$  U/l; NOH:  $17,0 \pm 6,7$  U/l).



**Abbildung 24:** Aktivität der GLDH in Abhängigkeit von der NO-Konzentration zum Zeitpunkt R1 (NOT:  $n=17$ ; NOH:  $n=16$ )

## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß unterschiedlicher Infusionslösungen auf die Kinetik der Faktoren Big-ET, ET und NO bei der Lebertransplantation am Schweinmodell untersucht.

Big-ET-1, ET-1 und NO wurden außerdem mit Calcium, sowie hämodynamisch relevanten und den Leberschaden angehenden Parametern in Relation gesetzt.

### 4.1 Mediatoren und Reperfusionlösungen

#### 4.1.1 Big-ET und ET

Die Konzentrationsverläufe von Big-ET und ET in der Kontroll-, und der HHES-Gruppe ähneln sich sehr. In beiden Gruppen konnte kein Konzentrationsanstieg von Big-ET nach Reperfusion gefunden werden. Die Werte blieben vielmehr auf dem Ausgangsniveau und stiegen erst gegen Versuchsende leicht an. In der DCLHb-Gruppe wurde unmittelbar nach Reperfusion ein signifikanter Anstieg der Big-ET-Konzentration gefunden, welcher bis 5 h nach Reperfusion weiterbestand.

Wie von zahlreichen anderen Arbeitsgruppen wurden auch von uns erhöhte ET-Spiegel nach Lebertransplantation beobachtet (41,86,236).

Wie erklären sich nach der Reperfusion solche niedrigen Big-ET-Spiegel in zwei der drei Gruppen, wo doch Big-ET als Vorstufe von ET gilt (100), und dieses in allen drei Gruppen nach Reperfusion stark ansteigt?

Fukunaga et al. postulierten die These, welcher wir uns anschließen, daß ein Teil des ET, welches nach Transplantation zirkuliert, aus dem Spenderorgan freigesetzt wird (41), und so direkt aus dem Transplantat stammt. Da die ET-Produktion hauptsächlich auf mRNA-Ebene reguliert wird (254) dauert es einige Zeit, bis die Synthese der neuen Proteine anläuft. Während der Zeit der Ischämie ist diese vorhanden und das Endothelin-converting-enzyme kann alles dort entstehende Big-ET in ET umwandeln.

Bei Reperfusion wird dann nur ET und kein Big-ET in den systemischen Kreislauf ausgeschwemmt.

Da ET hauptsächlich lokal wirkt (93) und die Umwandlung von Big-ET in ET innerhalb der Zirkulation eine eher untergeordnete Rolle spielt (245), ist es recht wahrscheinlich, daß Big-ET ebenso wie ET lokal in höheren Konzentrationen vorliegt als von uns gemessen werden konnten. Auch die Ergebnisse von Sawamura et al. wonach die Konvertierung von Big-ET in ET sehr schnell und effektiv erfolgt (201) sprechen, geht man von einer lokalen Konvertierung aus, für systemisch niedrige Big-ET-Werte bei lokal hohen Konzentrationen.

Dennoch wird ein Teil der hohen ET-Werte nach Reperfusion vom Empfänger selbst produziert (96), denn bei anderen Forscherteams fanden sich (wie bei uns in der DCLHb-Gruppe) nach Reperfusion hohe Big-ET-Konzentrationen (41,111). So ist es auch möglich, daß unsere Kontrollösung (HES) und HHES die Freisetzung von Big-ET in den systemischen Kreislauf verhinderten oder es teilweise absorbierten, so daß es nicht gemessen werden konnte.

Da DCLHb in anderen Versuchen für steigende ET-Plasmaspiegel verantwortlich war (123,202,204), ist es recht wahrscheinlich, daß dieser Effekt auch bei uns zum tragen kam. In diesen Versuchen wurde jedoch die Konzentration von Big-ET nicht mitbestimmt, so daß über dessen Kinetik in diesem Zusammenhang keine über unsere Studie hinausgehenden Ergebnisse in der internationalen Literatur vorliegen. Der von uns gefundene signifikante Anstieg nach Reperfusion sowie der weitere Konzentrationsverlauf und die vorangegangenen Überlegungen sprechen jedoch dafür, daß auch die Big-ET-Ausschüttung durch DCLHb stimuliert wird.

Die etwa gleich hohen ET-Werte in allen drei Gruppen lassen noch Raum für eine weitere Überlegung. Es ist möglich, daß das Endothelin-converting-enzyme in allen drei Gruppen durch lokal hohe Big-ET-Konzentrationen gesättigt wurde. Jedoch nur in der DCLHb-Gruppe waren diese dennoch hoch genug, um auch systemisch gemessen werden zu können. Dies könnte die in allen drei Gruppen etwa gleichen ET-Werte bei doch sehr unterschiedlichen Big-ET-Konzentrationen erklären.

#### 4.1.2 Stickstoffmonoxid (NO)

Unabhängig von der Reperfusionstrategie findet sich ein Abfall der NO-Konzentration nach Reperfusion. In der HHES-Gruppe waren die Werte von Anfang an deutlich höher als in den anderen beiden Gruppen. Dennoch ist der Verlauf, wenn auch auf einem insgesamt höheren Niveau, dem der anderen beiden Gruppen sehr ähnlich.

Während einer Ischämie fallen die intrazellulären NADPH- und Sauerstoffkonzentrationen. Da diese aber essentiell für die Aktivität der NO-Synthase sind, fallen auch die NO-Spiegel (223). Während der Reperfusion aktiviert ein starker Einstrom von Calcium in die Endothelzellen die endotheliale NO-Synthase und führt so zu einem Anstieg der NO-Produktion. Dies erklärt den leichten Anstieg der NO-Konzentration in den Gruppen DCLHb und HHES 20 min nach Reperfusion. In der Kontrollgruppe mag dieser Effekt eventuell durch die dortige größere hypoxische Belastung der Endothelzellen überlagert worden sein. Da die Endothelzellen aber aufgrund der hypoxischen Belastung funktionell beeinträchtigt sind, hat dieser Effekt generell, und so auch in den anderen beiden Gruppen, nur flüchtigen Charakter (125,222,223). Außerdem werden in der Zeit unmittelbar nach Reperfusion große Mengen an Arginase freigesetzt. Durch ein Absinken an L-Arginin nach Reperfusion sind sie für die weiter sinkenden NO-Spiegel verantwortlich und so wird die defizitäre Lage weiter verstärkt (214).

Da die induzierbare NO-Synthase in ihrer Aktivität unabhängig von der intrazellulären Ca-Konzentration ist und um ein vielfaches mehr an NO produzieren kann als die endotheliale NO-Synthase, geht man von deren größeren Bedeutung in pathologischen Zuständen aus (49,103,215). Nun dauert es aber ca. 6 h bis die Aktivität der induzierbaren NO-Synthase anläuft (74). Dies könnte den Anstieg der NO-Konzentration in der Kontrollgruppe zum letzten Meßpunkt erklären. Möglicherweise war die Induktion in den anderen beiden Gruppen nicht so stark. Was könnte hierfür der Grund sein?

Im Experiment konnte ein sofortiger Anstieg der Konzentration von TNF- $\alpha$  nach Reperfusion gezeigt werden (22). Zusammen mit IL-1 ruft es in Kupfferzellen und Hepatozyten eine Aktivierung von NF- $\kappa$ B hervor, welche die Induktion der induzierbaren NO-Synthase fördert (49,215). Möglicherweise war die Aktivierung der

NF- $\kappa$ B weniger stark ausgeprägt, weil die beiden Verumlösungen HHES und DCLHb hepatoprotektiv wirkten und so der Anstieg von TNF- $\alpha$  und/oder der von IL-1 nach Reperfusion geringer war als in der Kontrollgruppe.

## **4.2 Mediatoren und Physiologie**

### **4.2.1 Calcium**

Da bereits zahlreiche Arbeitsgruppen einen Zusammenhang zwischen Vasokonstriktion, extrazellulärer Calciumkonzentration und plasmatischer ET-Konzentration zeigen konnten (53,137), war es interessant zu sehen und nachzuweisen, ob eine hohe beziehungsweise tiefe ET- oder Big-ET-Konzentration ihrerseits einen Zusammenhang mit dem Calciumspiegel hat.

Unsere Ergebnisse sprechen dafür, daß ein hoher Big-ET-Wert nach Reperfusion auch hohe Calciumwerte nach sich zieht. So stieg die Ca<sup>++</sup>-Konzentration nach Reperfusion bei hohen Big-ET-Konzentrationen signifikant stärker an als dies bei zu diesem Zeitpunkt tiefen Big-ET-Konzentrationen der Fall war.

Anders als bei seiner Vorstufe war zwischen ET und dem Ca-Plasmaspiegel kein Zusammenhang darstellbar. Man muß daher davon ausgehen, daß der durch ET hervorgerufene Ca<sup>++</sup>-Influx in die glatten Muskelzellen (53) im Ganzen gesehen zu gering ist, um sich systemisch messen zu lassen.

### **4.2.2 Hämodynamik**

Das HZV fällt nicht nur operationsbedingt während der anhepatischen Phase ab. Des weiteren sind die vermutlich in dieser Phase der Operation hohen Big-ET und ET-Werte mitverantwortlich. So ist bekannt, daß die intravenöse Zufuhr von ET einen kurzzeitigen Blutdruckabfall auslöst, gefolgt von einem langanhaltenden Blutdruckanstieg (50,54,131,153). Diese Beobachtung könnte den von uns gefundenen Abfall des HZV mit anschließendem Wiederanstieg auf konstant präoperative Werte in

der Gruppe mit den hohen ET-Spiegeln gegenüber der Gruppe mit den niedrigeren ET-Werten erklären. Möglicherweise gelingt es gerade erst mit der durch die hohen ET-Werte hervorgerufenen Zentralisation des Kreislaufs, das HZV aufrechtzuerhalten. In der anderen Gruppe mit den niedrigen ET-Werten sinkt das HZV ab, da das Blut in der Peripherie verbleibt. Somit stehen unsere Ergebnisse im Gegensatz zu denen von Mortensen et al., wonach ET dosisabhängig das HZV senkt (153). Allerdings müssen diese Ergebnisse sich nicht unbedingt widersprechen, da hier eine andere Spezies (Ratten) verwendet wurden, diese auch nicht dem bei der Reperfusion entstehenden Schock ausgesetzt waren und auch sonst einige methodische Unterschiede vorhanden sind.

Da Big-ET als Vorläufermolekül hinsichtlich seiner pharmakologischen Wirkung ungefähr 140mal schwächer ist als ET (102), wundert es nicht, daß der bei ET gefundene Effekt ausblieb und kein Zusammenhang zwischen hohen/tiefen Big-ET-Spiegeln und dem HZV gezeigt werden konnte.

Ein kurz nach Reperfusion hoher ET-Wert tendiert dazu, eher niedrigere Herzfrequenzen (HF) nach sich zu ziehen. Dies gilt besonders für die frühe (nach ca. 20 – 35 min) und für die späte Phase (nach ca. 5 – 6 h) nach Reperfusion.

In der frühen Phase findet sich das Tier häufig in einer Phase grosser kardiovaskulärer Instabilität mit zum Teil kritisch hypotonen Blutdruckwerten. Um die Gewebeoxygenierung der wichtigen Organe weiter aufrechtzuerhalten, wird der Organismus tachykard. Finden sich nun systemisch meßbar hohe ET-Werte, führen diese zu einer Vasokonstriktion der Gefäße und der Kreislauf wird zentralisiert. Dies wiederum erlaubt eine niedrigerer HF, um die lebensnotwendigen Organe weiter adäquat zu versorgen und erklärt unsere Ergebnisse. Im weiteren Verlauf verliert sich dann der Unterschied zwischen beiden Gruppen und kommt erst wieder gegen Versuchsende zum tragen, wenn das Tier durch zahlreiche Blutprobenentnahmen und protrahierten Blutverlust weiter belastet ist. Hier werden unsere Ergebnisse durch die Studie von Mortensen et al. unterstützt, wonach hohe ET-Werte die HF senken (153). In vitro wurde dem ET eine HF steigernde Wirkung nachgewiesen. Dies mag auch bei uns zum Tragen gekommen sein, wurde aber dann sicherlich durch die oben geschilderten Vorgänge überlagert (87).

Der Wedge-Druck entspricht beim gesunden und oft auch beim kranken Herzen dem Druck im linken Vorhof bzw. dem linksventrikulären enddiastolischen Druck. Da ET

ausgeprägte Veränderungen am Kreislaufsystem hervorruft, war die graphische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Wedge-Druck und hohen bzw. tiefen plasmatischen ET-Konzentrationen von Interesse. So fallen hier besonders zwei Dinge auf. Zum einen führt ein tiefer ET-Wert 5 min nach Reperfusion sofort zu einem signifikanten Abfall des Wedge-Drucks und zum anderen wird dieses Absinken nicht wieder aufgeholt, d.h. die Drücke sind über den ganzen Beobachtungszeitraum konstant niedriger als in der Gruppe mit den hohen ET-Werten. Anders ausgedrückt: hohe ET-Werte ziehen konstant höhere Wedge-Drücke nach sich als dies bei tieferen ET-Werten der Fall ist.

Die umfassenden hämodynamischen Veränderungen, welche durch ET hervorgerufen werden können, haben auch einen Einfluß auf den ZVD. Wiederum operationsbedingt kommt es in der Zeit zwischen der anhepatischen Phase und R1, 5 min nach Reperfusion in beiden Gruppen zu einem massiven Anstieg des ZVD. Dieser fällt anschließend in beiden Gruppen wieder ab und findet sich 6 h nach Reperfusion auch in beiden wieder auf präoperativem Niveau.

In der Gruppe mit den höheren ET-Werten findet sich fast immer ein höherer ZVD. Dies läßt sich mit der dort herrschenden höheren ET-Konzentration und der hiermit verbundenen stärkeren Vasokonstriktion erklären.

Da NO auf die Hämodynamik einen großen Einfluß ausübt, richtete sich unsere Aufmerksamkeit auf einen möglichen Zusammenhang zwischen dem mittleren pulmonalarteriellen Druck (MPAP) und der systemischen NO-Konzentration. Der MPAP steigt nach Reperfusion in beiden Gruppen massiv an. Des weiteren ist festzuhalten, daß der MPAP in der Gruppe mit den hohen NO-Werten über den ganzen Beobachtungszeitraum höher ist als in der Vergleichsgruppe.

Eine Vielzahl unterschiedlicher Mechanismen können für einen hohen MPAP verantwortlich sein. So ist eine hypoxisch bedingte pulmonale Vasokonstriktion ätiologisch eine häufige Ursache. Je länger und intensiver der hypoxische Stimulus ist, desto stärker steigt der pulmonalarterielle Widerstand an, welcher dann seinerseits eine pulmonale Hypertension erzeugt (246).

Nach aktuellem Kenntnisstand wirkt NO einer pulmonalarteriellen Hypertension entgegen (190). Dennoch schließt sich diese Beobachtung nicht mit dem Ergebnis unserer Studie aus, wonach der MPAP in der Gruppe mit den hohen NO-Werten höher war als in der Vergleichsgruppe, da wie bereits erwähnt zahlreiche Einflüsse den MPAP

bestimmen. Der Zusammenhang hohe NO-Werte mit einem hohen MPAP wurde von uns zwar nachgewiesen, aber ob dies auch kausal zusammenhängt, muß aufgrund der bereits vorhandenen Literatur in Frage gestellt werden.

Neben dem MPAP wurde ebenfalls der Wedge-Druck untersucht. Nach dem starken Abfall während der anhepatischen Phase, der vermutlich hypovolämisch bedingt ist, steigt der Wedge-Druck in beiden Gruppen nach Reperfusion stark an. Ein Anstieg des Wedge-Drucks kann zahlreiche Ursachen haben, wie zum Beispiel ein kardiogener Schock, eine akute Mitralklappeninsuffizienz oder eine Perikardtamponade (75).

Wie schon beim MPAP gesehen werden konnte, so ist auch hier der Druck in der Gruppe mit den hohen NO-Werten unmittelbar nach Reperfusion höher als in der Vergleichsgruppe. Im weiteren Beobachtungszeitraum verlieren sich die Unterschiede. So gelten die oben angestellten Überlegungen auch hier, daß von uns zwar ein Zusammenhang aufgezeigt wurde, die Kausalität aber aufgrund der Literatur hinterfragt werden muß.

#### 4.2.3 Reperfusionsschaden

Zur Beurteilung der Integrität der Leberzelle wird im klinischen Alltag hauptsächlich die systemische Aktivität der vier Enzyme Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT),  $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT) und Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) gemessen, die eine Leberzellschädigung anzeigen. So korreliert der Anstieg der Enzymaktivität mit dem Umfang der Leberzellschädigung (180).

Die GOT findet sich sowohl im Zytoplasma als auch in den Mitochondrien der Leberzelle. Daher steigt sie bereits bei leichten Leberzellschädigungen an. Die GPT findet sich nur im Zytoplasma, ist also vor allem ein Marker einer leichten Leberzellschädigung (180). Generell geht man davon aus, daß GOT und GPT, von einigen Ausnahmen abgesehen, parallel verlaufende Enzymaktivitäten besitzen (180). So ähneln sich die Graphiken der Transaminasen mit Big-ET bzw. ET stark, auch wenn die absoluten Werte der GOT deutlich über denen der GPT liegen. Dies spricht für einen schweren Leberzellschaden, wie er bei einem solchen Versuch erwartet wird.

Sowohl die GOT als auch die GPT zeigen für tiefe Big-ET und ET-Werte deutlich höhere Enzymaktivitäten als die Vergleichsgruppen. Wie kann man das insgesamt doch recht ähnliche Bild dieser vier Graphiken erklären?

Verschiedene Arbeitsgruppen berichteten von hohen Endothelinspiegeln, wenn die Leber einen Reperfusionsschaden erleidet, da dann ET verstärkt gebildet wird (40,55). Dies steht jedoch nur im scheinbaren Gegensatz zu unseren Ergebnissen. Die methodischen Unterschiede, mit der diese beiden Arbeitsgruppen zu ihren Ergebnissen kamen, können diesen Widerspruch auflösen. Goto et al. setzten die Leber einer warmen Ischämie aus und maßen anschließend die ET-Spiegel. Fujioka et al. arbeiteten mit einem ET-Antagonisten und verglichen anschließend die ET-Spiegel mit und ohne Applikation. Wir hingegen trennten die Tiere nach den Big-ET und ET-Spiegeln zum Zeitpunkt R1 in zwei Gruppen auf. So darf nicht vergessen werden, daß eine stark geschädigte Leber sicherlich in ihrer Syntheseleistung eingeschränkt ist. Möglicherweise sind die Transaminasen in den Gruppen der niedrigen Konzentrationen also deshalb höher als in den Gruppen hoher Big-ET/ET-Konzentration, weil die Leber hier so stark geschädigt wurde, daß sie auch diese beiden Peptide nicht mehr produzieren konnte. Eine andere ergänzende Erklärungsmöglichkeit könnte die bessere Kreislaufgesamtsituation der Tiere bei erhöhten Big-ET und ET-Konzentrationen sein.

Die  $\gamma$ -GT ist ein membrangebundenes Enzym, welches sich im hepatobiliären System sowie in anderen Geweben findet. Sie ist zusammen mit der alkalischen Phosphatase der sensibelste Indikator um Schäden des Gallengangsystems aufzuzeigen. Dennoch sind Anstiege der  $\gamma$ -GT unspezifisch und können auch durch Schäden an Pankreas, Herz, den Nieren oder Lungen hervorgerufen werden. Dieser Mangel an Spezifität der  $\gamma$ -GT limitiert ihre klinische Aussagekraft (180).

Der Zusammenhang einer hohen und einer tiefen Big-ET-Konzentration und der  $\gamma$ -GT zwischen den beiden Gruppen wird in einem Aktivitätssabfall in der anhepatischen Phase ersichtlich. Das ist nicht weiter verwunderlich, da in dieser Phase zumindest von Seiten der Leber keine  $\gamma$ -GT entstehen kann, da sie sich ja noch in der Implantation befindet und keinen Anschluß an den Kreislauf hat. Im weiteren Verlauf kann man in der Gruppe der hohen Big-ET-Werte diskret höhere Aktivitäten der  $\gamma$ -GT messen als in der anderen Gruppe. Ob nun die  $\gamma$ -GT unter Einfluß von Big-ET bevorzugt freigesetzt wird, muß dennoch bezweifelt werden.

Die Korrelation der  $\gamma$ -GT mit ET zeigt einen etwas anderen Verlauf. Hier sind die Werte in der Gruppe mit den tiefen ET-Spiegeln ab der Reperfusionphase immer leicht über denen der Vergleichsgruppe. Ob von einem protektiven Zusammenhang für ET bezüglich des hepatobiliären Systems geredet werden kann, ist wie oben bereits erwähnt fraglich, da auch hier die Messungen immer innerhalb der Normwerte liegen.

Die GLDH ist hauptsächlich mitochondrial lokalisiert und markiert daher einen schweren Leberzellschaden. Die Grafik Big-ET und GLDH zeigt einen starken Anstieg der Serumaktivität nach Reperfusion. Das Ausmaß der Enzymaktivität ist in der Gruppe der tiefen ET-Werte deutlich höher als in der Gruppe mit den höheren Werten. Dies bleibt über den ganzen Beobachtungszeitraum hinweg so, auch wenn sich die Gruppen gegen Versuchsende einander annähern.

Hier können die Überlegungen, die bereits bei den Transaminasen angestellt wurden, wiederholt werden. Eine schwer geschädigte Leber ist nicht in der Lage, ihrer aufwendigen Syntheseleistung nachzukommen (GLDH in der Gruppe Big-ET-tief bis zu 6,5-fach erhöht). Es muß daher davon ausgegangen werden, daß das Organ im Falle der hohen Big-ET-Werte zwar auch geschädigt war (die GLDH ist hier auf das etwa 2,5-4-fache des normalen Höchstwertes von 4 erhöht), aber eben nicht so stark wie in der anderen Gruppe.

Für ET zeigt sich ein etwas anderes Bild. Nach einem starken Anstieg zum Zeitpunkt der Reperfusion liegt die Gruppe der hohen ET-Konzentrationen über, dann 2 Stunden nach Reperfusion unter derjenigen mit den tiefen Werten um dann am Ende wieder über ihr zu liegen.

Wie bereits erläutert, ist ET durch sein Wirkprofil an der Ausbildung eines Reperfusionsschaden unmittelbar beteiligt. Möglicherweise ist der Zellschaden in der Gruppe ET-hoch anfangs deshalb höher, da hier in der anhepatischen Phase mehr ET entstehen konnte. In der anderen Gruppe zeigte sich eine geringere ET-Konzentration. Dies wirkte sich zellprotektiv aus. Folgt man der Überlegung einer eingeschränkten Leberproduktivität weiter, so muß davon ausgegangen werden, daß sich in der Gruppe ET-hoch trotz besserer Lebefunktion durch die größere Produktion an ET anfangs ein stärkerer Zellschaden manifestiert. Dieser Trend verliert sich allerdings nach 2 Stunden wieder und kehrt sich dann ins Gegenteil um, d.h. die auch in ihrer Produktivität eingeschränkte, stark geschädigte Leber hat trotz niedrigerer ET-Werte einen größeren Zellschaden. Eine weitere ergänzende Erklärungsmöglichkeit dieses Kurvenverlaufes ist

die bereits bei den Transaminasen erwähnte verbesserte Kreislaufsituation bei erhöhten Big-ET und ET-Konzentrationen.

#### 4.2.4 Reperfusionsschaden und NO

Die GOT zeigt in beiden Gruppen nach Reperfusion einen signifikanten Aktivitätsanstieg. Dies reflektiert den deutlichen mitochondrialen und zytoplasmatischen Zellschaden der nach der Reperfusionssphase in beiden Gruppen entsteht.

Zahlreiche Studien zeigen, daß NO einen hepatoprotektiven Effekt hat (siehe Kap. 1.4.4). Dennoch muß unter bestimmten Bedingungen auch von toxischen Effekten des NO ausgegangen werden (siehe Kap 1.4.3). Diese scheinen zum Tragen gekommen zu sein, da in der Gruppe mit den hohen NO-Werten im gesamten Zeitraum nach Reperfusion deutlich höhere Aktivitäten an GOT gemessen werden konnten.

Dasselbe Bild in niedrigerer Aktivität und noch größeren Gruppenunterschieden zeigt sich bei der GPT. Hier sinkt die Aktivität der GPT in der Gruppe der niedrigen NO-Werte nach Reperfusion sogar noch weiter ab, wohingegen sie in der anderen Gruppe deutlich ansteigt. Im weiteren Verlauf sind die Unterschiede zwischen beiden Gruppen an mehreren Meßpunkten hintereinander sogar signifikant.

So zeigt sich in unserer Studie ein hoher NO-Wert 5 Minuten nach Reperfusion (unser Kriterium, um die Gruppen aufzuteilen) prognostisch ungünstig bezüglich der GOT und der GPT.

Bis zwei Stunden vor Versuchsende bleibt die Aktivität der  $\gamma$ -GT höher, wenn NO kurz nach Reperfusion hoch war und umgekehrt. Die letzten beiden Stunden ist dann das Gegensätzliche der Fall. So können hier die vorangegangenen Überlegungen im Prinzip wiederholt werden. Eine höhere NO-Konzentration zeigte ein stärkeres Freiwerden an  $\gamma$ -GT. Dies bedeutet, eine hohe NO-Konzentration 5 Minuten nach Reperfusion erzeugte in unserem Versuch einen höheren hepatobiliären Schaden als eine etwas niedrigerere. Allerdings darf nicht vergessen werden, daß die absolute Konzentration der  $\gamma$ -GT so niedrig ist, daß sie unter klinischen Bedingungen nicht als pathologisch gewertet werden würde.

Bis in die anhepatische Phase hinein zeigen beide Gruppen einen identischen Verlauf für die GLDH. Nach Reperfusion ist dann der Leberzellschaden, den die GLDH zeigt, in der Gruppe der hohen NO-Konzentration deutlich höher als in der Vergleichsgruppe. Erst 1 h vor Versuchsende nähern sich die Gruppen wieder einander an. Somit reiht sich dieses Ergebnis problemlos in das der anderen Leberzellschaden anzeigenden Enzyme ein. Sehr wahrscheinlich muß man vom gleichen Mechanismus der Schädigung ausgehen. Eine hohe Konzentration an NO kurz nach Reperfusion steht bei unserem Versuchsaufbau im Zusammenhang mit einer Leberschädigung. Die Tatsache, daß sich ein solch ähnliches Bild bei allen vier Leberenzymen in einer solchen Konstanz bietet, macht Meßfehler weitgehend unwahrscheinlich. Die Kreislaufsituation ist insgesamt schon instabil. Zirkulieren nun auch noch hohe NO-Werte, so kommt es im Gegensatz zu niedrigeren NO-Werten zu einer schlechteren Blutversorgung der Leber. Ähnliches ist auch beim septischen Schock zu beobachten (192). Hier muß allerdings angemerkt werden, daß in diesem Falle die gemessenen NO-Werte höher liegen als bei uns. Dies nun schlägt sich dann in den von uns gemessenen erhöhten Enzymaktivitäten bei hohen NO-Werten nieder. Der von den anderen Gruppen gezeigte hepatoprotektive Effekt von NO auf lokaler Ebene kommt sicherlich auch in unserer Studie zum Tragen, kann aber durch die insgesamt schlechtere nutritive Versorgung der Leber mit Blut und Nährstoffen aus eben geschilderten Überlegungen heraus nicht ausgeglichen werden.

## 5 Zusammenfassung

Bei der orthotopen Lebertransplantation ist eine intakte Mikro- und Makrozirkulation in der frühen Reperfusion von grosser Bedeutung. Endothelin (ET), welches durch das Endothelin Converting Enzyme (ECE) aus seiner Vorstufe Big-Endothelin (Big-ET) gebildet wird, ist der derzeit stärkste bekannte Vasokonstriktor. Dem gegenüber führt NO (Stickstoffmonoxid) zu einer starken Gefässrelaxation. Ziel der Studie war die Untersuchung obiger Parameter im Rahmen der orthotopen Lebertransplantation.

Bei 33 orthotopen Lebertransplantationen an Schweinen (Deutsche Landrasse) wurden bei verschiedenen Reperfusionstrategien (Gabe von Hydroxyethylstärke (HAES), Hyperhydroxyethylstärke (HyperHES) oder Diaspirin Crosslinked Hemoglobin (DCLHb™) jeweils 5min vor Reperfusion) die Plasmaspiegel von Big-ET, ET und NO vor, bei und 5min nach Reperfusion, danach alle 15min während 1h, dann jeweils stündlich für weitere 5h bestimmt und mit Vitalparametern, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT),  $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase ( $\gamma$ -GT) und der Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) korreliert. In der Kontroll- und der HHES-Gruppe wurde eine systemisch tiefe Big-ET-Konzentration gemessen. Die Konzentration von ET war in allen drei Gruppen nach Reperfusion erhöht (3,8-5,2fmol/l).

Der Median der Big-ET/ET/NO-Werte 5Min nach Reperfusion wurde benutzt um die Tiere in zwei Gruppen einzuteilen. Hohe ET-Werte korrelierten zum Zeitpunkt R1 mit einem höheren Herzzeitvolumen (4,5vs3,6l/min), einem höheren zentralen Venendruck (9vs8mmHg), höheren Wedge-Drücken (10,8vs8,9mmHg) sowie einer niedrigeren Herzfrequenz (98vs89min<sup>-1</sup>) als tiefe ET-Werte. Für Big-ET konnte diesbezüglich kein Zusammenhang gefunden werden. Bei tiefen Big-ET und ET-Spiegeln war eine höhere Aktivität der GOT (290vs150U/l), GPT (18vs11,8U/l) sowie der  $\gamma$ -GT (16vs12U/l) meßbar.

Generell sanken die NO-Plasmaspiegel nach Reperfusion kontinuierlich ab (38-84uM). Die Enzymaktivität der GOT (260vs140U/l), GPT (19vs9U/l),  $\gamma$ -GT (17vs11U/l) und der GLDH (29vs10U/l) ist bei hohen NO-Werten erhöht.

Diese Ergebnisse sprechen für eine lokale, schnelle und effektive Konvertierung des Big-ET zu ET, welche durch eine Sättigung der ECE limitiert wird. Die bessere

Kreislaufgesamtsituation der Tiere bei hohen Big-ET und ET-Spiegeln erklärt den gemessenen verminderten Reperfusionsschaden. Umgekehrt reflektieren die hohen NO-Werte eine schlechte Kreislaufgesamtsituation mit entsprechend hohem Leberschaden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Adams DR, Brochwicz LM, Butler AR. Nitric oxide: physiological roles, biosynthesis and medical uses.  
Fortschr Chem Org Naturst 1999;76: 1-211.
2. Akyurek ML, Hansson GK, Larsson E, Fellstrom BC. Nitric oxide generation by nitric oxide synthase isoforms in transplanted vessels.  
Transplant Proc 1997;29: 2571-2572.
3. Anggard E, Galton S, Rae G et al. The fate of radioiodinated endothelin-1 and endothelin-3 in the rat.  
J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl 5: S46-S49.
4. Anonymus. Similarity of endothelin to snake venom toxin.  
Nature 1988;335: 303.
5. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanishi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor.  
Nature 1990;348: 730-732.
6. Barnes K, Murphy LJ, Takahashi M, Tanzawa K, Turner AJ. Localization and biochemical characterization of endothelin-converting enzyme.  
J Cardiovasc Pharmacol 1995;26 Suppl 3: S37-S39.
7. Barve A, Sen AP, Saxena PR, Gulati A. Dose response effect of diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) on systemic hemodynamics and regional blood circulation in rats. Artificial cells blood substitutes and immobilization biotechnology 1997;25: 75-84.
8. Bauer M, Zhang JX, Bauer I, Clemens MG. ET-1 induced alterations of hepatic microcirculation: sinusoidal and extrasinusoidal sites of action.  
Am J Physiol 1994;267: G143-G149.
9. Behrman SW, Fabian TC, Kudsk KA, Proctor KG. Microcirculatory flow changes after initial resuscitation of hemorrhagic shock with 7.5% hypertonic saline/6% dextran 70.  
J Trauma 1991;31: 589-598.
10. Benigni A, Remuzzi G. Endothelin antagonists.  
Lancet 1999;353: 133-138.

11. Bennett T, Gardiner SM. Recent developments in endothelin research.  
J Hum Hypertens 1994;8: 587-592.
12. Benz S, Schnabel R, Weber H et al. The nitric oxide donor sodium nitroprusside is protective in ischemia/reperfusion injury of the pancreas.  
Transplantation 1998;66: 994-999.
13. Böcker W, Denk H, Heitz PhU. Effektormechanismen der Entzündung. In:  
Böcker W, Denk H, Heitz PhU, eds.  
Pathologie. Urban & Fischer, 2001: 80-85.
14. Bolger GT, Liard F, Jaramillo J. Tissue selectivity and calcium dependence of contractile responses to endothelin.  
J Cardiovasc Pharmacol 1990;15: 946-958.
15. Boulanger C, Luscher TF. Release of endothelin from the porcine aorta.  
Inhibition by endothelium-derived nitric oxide.  
J Clin Invest 1990;85: 587-590.
16. Brain SD, Crossman DC, Buckley TL, Williams TJ. Endothelin-1:  
demonstration of potent effects on the microcirculation of humans and other species.  
J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl 5: S147-S149.
17. Brown GC. Nitric oxide and mitochondrial respiration.  
Biochim Biophys Acta 1999;1411: 351-369.
18. Burney S, Caulfield JL, Niles JC, Wishnok JS, Tannenbaum SR. The chemistry of DNA damage from nitric oxide and peroxynitrite.  
Mutat Res 1999;424: 37-49.
19. Bzeizi KI, Jalan R, Plevris JN, Hayes PC. Primary graft dysfunction after liver transplantation: from pathogenesis to prevention.  
Liver Transpl Surg 1997;3: 137-148.
20. Chatterjee R, Welty EV, Walder RY et al. Isolation and characterization of a new hemoglobin derivative cross-linked between the alpha chains (lysine 99 alpha 1----lysine 99 alpha 2).  
J Biol Chem 1986;261: 9929-9937.
21. Clozel M, Fischli W. Human cultured endothelial cells do secrete endothelin-1.  
J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl 5: S229-S231.

22. Colletti LM, Remick DG, Burtch GD, Kunkel SL, Strieter RM, Campbell DAJ. Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Clin Invest* 1990;85: 1936-1943.
23. Cywes R, Packham MA, Tietze L et al. Role of platelets in hepatic allograft preservation injury in the rat. *Hepatology* 1993;18: 635-647.
24. D'Orleans JP, Lidbury PS, Telemaque S, Warner TD, Vane JR. Human big endothelin releases prostacyclin in vivo and in vitro through a phosphoramidon-sensitive conversion to endothelin-1. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17 Suppl 7: S251-S255.
25. D'Orleans JP, Telemaque S, Claing A. Different pharmacological profiles of big-endothelin-3 and big-endothelin-1 in vivo and in vitro. *Br J Pharmacol* 1991;104: 440-444.
26. De CR, Libby P, Peng HB et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995;96: 60-68.
27. de-Nucci G, Thomas R, D'Orleans JP et al. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85: 9797-9800.
28. Dimmeler S, Lottspeich F, Brune B. Nitric oxide causes ADP-ribosylation and inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *J Biol Chem* 1992;267: 16771-16774.
29. Drapier JC, Hibbs-JB J. Differentiation of murine macrophages to express nonspecific cytotoxicity for tumor cells results in L-arginine-dependent inhibition of mitochondrial iron-sulfur enzymes in the macrophage effector cells. *J Immunol* 1988;140: 2829-2838.
30. Eguchi S, Hirata Y, Imai T, Marumo F. Endothelin-1 as an autocrine growth factor for endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26 Suppl 3: S279-S283.

31. Elmoselhi AB, Grover AK. Endothelin contraction in pig coronary artery: receptor types and Ca(2+)-mobilization.  
Mol Cell Biochem 1997;176: 29-33.
32. Esteban F, Gomez JJ, Martin MC et al. Nitric oxide and hepatic ischemic injury in human orthotopic liver transplantation.  
Transplant Proc 1995;27: 2283-2285.
33. Fabrega E, Casafont F, de-la-Pena J et al. Nitric oxide production in hepatic cell rejection of liver transplant patients.  
Transplant Proc 1997;29: 505-506.
34. Fabrega E, Crespo J, Casafont F et al. Endothelin-1 and vascular complications in liver transplantation.  
Transplantation 1995;59: 1748-1751.
35. Fabrega E, Figols J, Duenas C et al. Value of endothelin in cellular rejection after liver transplantation.  
Clin Transplant 1997;11: 25-28.
36. Faro R, Grassi-Kassisse DM, Donato JL et al. Role of endothelin ETA and ETB receptors in the arterial vasculature of the isolated canine liver.  
J Cardiovasc Pharmacol 1995;26 Suppl 3: S204-S207.
37. Filep JG, Foldes FE, Sirois P. Nitric oxide modulates vascular permeability in the rat coronary circulation.  
Br J Pharmacol 1993;108: 323-326.
38. Fortes ZB, de Nucci G, Garcia LJ. Effect of endothelin-1 on arterioles and venules in vivo.  
J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl 5: S200-S201.
39. Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.  
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg - Berlin - Oxford, 1996.
40. Fujioka H, Mizoe A, Watanabe Y et al. Change in serum levels of endothelin-1 in porcine liver transplantation and efficacy of ET-1 antagonist to protect damage to liver grafts.  
Transplant Proc 1997;29: 869-870.

41. Fukunaga K, Takada Y, Gu M et al. Peri- and postoperative kinetics of endothelin-1/big endothelin-1 and effects of endothelin antagonist in porcine liver transplantation from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 2000;32: 1647-1649.
42. Fukunaga K, Takada Y, Mei G et al. An endothelin receptor antagonist ameliorates injuries of sinusoid lining cells in porcine liver transplantation. *Am J Surg* 1999;178: 64-68.
43. Fukunaga K, Takada Y, Taniguchi H et al. Endothelin antagonist treatment for successful liver transplantation from non-heart-beating donors. *Transplantation* 1999;67: 328-332.
44. Fukunaga K, Takada Y, Taniguchi H, Otsuka M, Fukao K. Endothelin antagonist improves viability of liver grafts from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 1999;31: 460-461.
45. Fukunaga K, Takada Y, Taniguchi H et al. Protecting the viability of hepatic allografts procured from non-heart-beating donors by blockade of endothelin and platelet activating factor in porcine liver transplantation. *Int Surg* 1998;83: 226-231.
46. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288: 373-376.
47. Gandhi CR, Kang Y, De-Wolf A et al. Altered endothelin homeostasis in patients undergoing liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1996;2: 362-369.
48. Gandhi CR, Stephenson K, Olson MS. Endothelin, a potent peptide agonist in the liver. *J Biol Chem* 1990;265: 17432-17435.
49. Geller DA, de Vera ME, Russell DA et al. A central role for IL-1 beta in the in vitro and in vivo regulation of hepatic inducible nitric oxide synthase. IL-1 beta induces hepatic nitric oxide synthesis. *J Immunol* 1995;155: 4890-4898.
50. Goetz KL, Wang BC, Madwed JB, Zhu JL, Leadley-RJ J. Cardiovascular, renal, and endocrine responses to intravenous endothelin in conscious dogs. *Am J Physiol* 1988;255: R1064-R1068.

51. Goligorsky MS, Budzikowski AS, Tsukahara H, Noiri E. Co-operation between endothelin and nitric oxide in promoting endothelial cell migration and angiogenesis.  
*Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999;26: 269-271.
52. Gomazkov OA. Endothelin-converting enzyme: its functional aspect.  
*Biochemistry Mosc* 1998;63: 125-132.
53. Goto K, Kasuya Y, Matsuki N et al. Endothelin activates the dihydropyridine-sensitive, voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel in vascular smooth muscle.  
*Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86: 3915-3918.
54. Goto K, Yanagisawa M, Kimura S, Masaki T. Cardiovascular effects of endothelin.  
*Jpn Circ J* 1992;56: 162-169.
55. Goto M, Takei Y, Kawano S et al. Endothelin-1 is involved in the pathogenesis of ischemia/reperfusion liver injury by hepatic microcirculatory disturbances.  
*Hepatology* 1994;19: 675-681.
56. Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor.  
*Nature* 1986;320: 454-456.
57. Gulati A, Sen AP, Sharma AC, Singh G. Role of ET and NO in resuscitative effect of diaspirin cross-linked hemoglobin after hemorrhage in rat.  
*Am J Physiol* 1997;273: H827-H836.
58. Gulati A, Sharma AC, Burhop KE. Effect of stroma-free hemoglobin and diaspirin cross-linked hemoglobin on the regional circulation and systemic hemodynamics.  
*Life Sci* 1994;55: 827-837.
59. Gulati A, Singh R, Chung SM, Sen AP. Role of endothelin-converting enzyme in the systemic hemodynamics and regional circulatory effects of proendothelin-1 (1-38) and diaspirin cross-linked hemoglobin in rats.  
*Journal of laboratory and clinical medicine* 1995;126: 559-570.
60. Habler O, Kleen M, Pape A, Meisner F, Kemming G, Messmer K. Diaspirin-crosslinked hemoglobin reduces mortality of severe hemorrhagic shock in pigs with critical coronary stenosis.  
*Critical care medicine* 2000;28: 1889-1898.

61. Habuchi Y, Tanaka H, Furukawa T, Tsujimura Y, Takahashi H, Yoshimura M. Endothelin enhances delayed potassium current via phospholipase C in guinea pig ventricular myocytes.  
*Am J Physiol* 1992;262: H345-H354.
62. Haendler B, Hechler U, Schleuning WD. Molecular cloning of human endothelin (ET) receptors ETA and ETB.  
*J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20 Suppl 12: S1-S4.
63. Hahn AW, Resink TJ, Scott BT, Powell J, Dohi Y, Buhler FR. Stimulation of endothelin mRNA and secretion in rat vascular smooth muscle cells: a novel autocrine function.  
*Cell Regul* 1990;1: 649-659.
64. Harrison VJ, Ziegler T, Bouzourene K, Suciu A, Silacci P, Hayoz D. Endothelin-1 and endothelin-converting enzyme-1 gene regulation by shear stress and flow-induced pressure.  
*J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31 Suppl 1: S38-S41.
65. Hart JL, Ledvina MA, Muldoon SM. Actions of diaspirin cross-linked hemoglobin on isolated rat and dog vessels. *J Lab Clin Med* 1997;129: 356-363.
66. Hasdai D, Lerman A. The atherogenic potential of endothelin.  
*Coron Artery Dis* 1995;6: 901-904.
67. Hasselgren PO. Prevention and treatment of ischemia of the liver.  
*Surg Gynecol Obstet* 1987;164: 187-196.
68. Haynes WG, Ferro CE, Webb DJ. Physiologic role of endothelin in maintenance of vascular tone in humans.  
*J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26 Suppl 3: S183-S185.
69. Hemsén A. Biochemical and functional characterization of endothelin peptides with special reference to vascular effects.  
*Acta Physiol Scand Suppl* 1991;602: 1-61.
70. Hemsén A, Lundberg JM. Presence of endothelin-1 and endothelin-3 in peripheral tissues and central nervous system of the pig.  
*Regul Pept* 1991;36: 71-83.
71. Hemsén A, Pernow J, Lundberg JM. Regional extraction of endothelins and conversion of big endothelin to endothelin-1 in the pig.  
*Acta Physiol Scand* 1991;141: 325-334.

72. Hieda HS, Gomez-Sanchez CE. Hypoxia increases endothelin release in bovine endothelial cells in culture, but epinephrine, norepinephrine, serotonin, histamine and angiotensin II do not.  
Life Sci 1990;47: 247-251.
73. Hirata Y, Yoshimi H, Takaichi S, Yanagisawa M, Masaki T. Binding and receptor down-regulation of a novel vasoconstrictor endothelin in cultured rat vascular smooth muscle cells.  
FEBS Lett 1988;239: 13-17.
74. Hobbs AJ, Ignarro LJ. Chemistry and molecular biology of nitric oxide synthesis. In: Mathie RT, Griffith TM, eds. The Haemodynamic Effects of Nitric Oxide.  
London: Imperial College Press, 1999: 52-81.
75. Hollenberg SM, Pamillo JE. Shock.  
Harrison's principles of internal medicine. 1998.
76. Housset C, Rockey DC, Bissell DM. Endothelin receptors in rat liver: lipocytes as a contractile target for endothelin 1.  
Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90: 9266-9270.
77. Housset CN, Rockey DC, Friedman SL, Bissell DM. Hepatic lipocytes: a major target for endothelin-1.  
J Hepatol 1995;22: 55-60.
78. Hughes AD, Thom SA, Woodall N et al. Human vascular responses to endothelin-1: observations in vivo and in vitro.  
J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl 5: S225-S228.
79. Huguet C, Gavelli A, Chieco PA et al. Liver ischemia for hepatic resection: where is the limit?  
Surgery 1992;111: 251-259.
80. Hur GM, Ryu YS, Yun HY et al. Hepatic ischemia/reperfusion in rats induces iNOS gene transcription by activation of NF-kappaB.  
Biochem Biophys Res Commun 1999;261: 917-922.
81. Ignarro LJ, Buga GM, Byrns RE, Wood KS, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide possess identical pharmacologic properties as relaxants of bovine arterial and venous smooth muscle.  
J Pharmacol Exp Ther 1988;246: 218-226.

82. Ihara M, Saeki T, Funabashi K et al. Two endothelin receptor subtypes in porcine arteries.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S119-S121.
83. Inglott FS, Mathie RT. Nitric oxide and hepatic ischemia-reperfusion injury.  
Hepatogastroenterology 2000;47: 1722-1725.
84. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes.  
Proc Natl Acad Sci U S A 1989;86: 2863-2867.
85. Ioannidis I, Hellinger A, Dehmlow C et al. Evidence for increased nitric oxide production after liver transplantation in humans.  
Transplantation 1995;59: 1293-1297.
86. Ishikawa T, Yamamoto Y, Takeuchi K et al. Relationship between peri- and postoperative plasma concentration of endothelin-1 and liver dysfunction in rat liver transplantation.  
Transplant Proc 1995;27: 524-527.
87. Ishikawa T, Yanagisawa M, Kimura S, Goto K, Masaki T. Positive chronotropic effects of endothelin, a novel endothelium-derived vasoconstrictor peptide.  
Pflugers Arch 1988;413: 108-110.
88. Ishikawa T, Yanagisawa M, Kimura S, Goto K, Masaki T. Positive inotropic action of novel vasoconstrictor peptide endothelin on guinea pig atria.  
Am J Physiol 1988;255: H970-H973.
89. Isobe M, Katsuramaki T, Kimura H et al. Role of inducible nitric oxide synthase on hepatic ischemia and reperfusion injury.  
Transplant Proc 2000;32: 1650-1652.
90. Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver.  
Am J Physiol 1991;260: G355-G362.
91. Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo.  
FASEB J 1990;4: 3355-3359.

92. Jin MB, Zhu Y, Zhang S et al. Attenuation of ischemic liver injury by a non-selective endothelin receptor antagonist.  
Transplant Proc 1997;29: 1335.
93. Kanse SM, Takahashi K, Warren JB et al. Production of endothelin by vascular smooth muscle cells.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S113-S116.
94. Kasuya Y, Takuwa Y, Yanagisawa M, Kimura S, Goto K, Masaki T.  
Endothelin-1 induces vasoconstriction through two functionally distinct pathways in porcine coronary artery: contribution of phosphoinositide turnover.  
Biochem Biophys Res Commun 1989;161: 1049-1055.
95. Kawada N, Tran-Thi TA, Klein H, Decker K. The contraction of hepatic stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances. Possible involvement of endothelin 1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus.  
Eur J Biochem 1993;213: 815-823.
96. Kawamura E, Yamanaka N, Okamoto E, Tomoda F, Furukawa K. Response of plasma and tissue endothelin-1 to liver ischemia and its implication in ischemia-reperfusion injury.  
Hepatology 1995;21: 1138-1143.
98. Keipert PE, Gomez CL, Gonzales A, Macdonald VW, Hess JR, Winslow RM.  
Diaspirin cross-linked hemoglobin: tissue distribution and long-term excretion after exchange transfusion.  
J Lab Clin Med 1994;123: 701-711.
99. Kichuk MR, Seyedi N, Zhang X et al. Regulation of nitric oxide production in human coronary microvessels and the contribution of local kinin formation.  
Circulation 1996;94: 44-51.
100. Kido T, Sawamura T, Masaki T. The processing pathway of endothelin-1 production.  
J Cardiovasc Pharmacol 1998;31 Suppl 1: S13-S15.
101. Kilbourn RG. Nitric oxide overproduction in septic shock--methemoglobin concentrations and blockade with diaspirin cross-linked hemoglobin.  
Crit Care Med 1997;25: 1446-1447.

102. Kimura S, Kasuya Y, Sawamura T et al. Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity: structure-activity relationships of big endothelin-1.  
J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl 5: S5-S7.
103. Kitade H, Sakitani K, Inoue K et al. Interleukin 1 beta markedly stimulates nitric oxide formation in the absence of other cytokines or lipopolysaccharide in primary cultured rat hepatocytes but not in Kupffer cells.  
Hepatology 1996;23: 797-802.
104. Kitamura Y, Usami M, Kotani G et al. Endothelin in liver cell injury and regeneration after 70% hepatectomy with portal ischemia.  
J Cardiovasc Pharmacol 1998;31 Suppl 1: S480-S481.
105. Kloog Y, Ambar I, Sokolovsky M, Kochva E, Wollberg Z, Bdolah A.  
Sarafotoxin, a novel vasoconstrictor peptide: phosphoinositide hydrolysis in rat heart and brain.  
Science 1988;242: 268-270.
106. Kodama M, Kanaide H, Abe S, Hirano K, Kai H, Nakamura M. Endothelin-induced Ca-independent contraction of the porcine coronary artery.  
Biochem Biophys Res Commun 1989;160: 1302-1308.
107. Koeppel TA, Thies JC, Schemmer P et al. Inhibition of nitric oxide synthesis in ischemia/reperfusion of the rat liver is followed by impairment of hepatic microvascular blood flow.  
J Hepatol 1997;27: 163-169.
108. Kourembanas S, Marsden PA, McQuillan LP, Faller DV. Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium.  
J Clin Invest 1991;88: 1054-1057.
109. Kraus T, Klar E, Mehrabi A et al. Endothelin 1/2 and big-endothelin concentration in bile samples during the early postoperative period after liver transplantation.  
Transplant Proc 1995;27: 1258-1260.
110. Kraus T, Mehrabi A, Golling M et al. Effects of exogenous endothelin-1 application on liver perfusion in native and transplanted porcine livers.  
Journal of surgical research 2000;93: 272-281.

111. Kraus T, Mehrabi A, Klar E et al. Peri and postoperative plasma kinetics of big endothelin and endothelin 1/2 after liver transplantation.  
Transplant Proc 1992;24: 2569-2571.
112. Kraus TW, Mehrabi A, Klar E et al. Endothelin concentration in porcine hepatic tissue during ischemia and reperfusion.  
Transplant Proc 1995;27: 2752-2753.
113. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion.  
Proc Natl Acad Sci U S A 1991;88: 4651-4655.
114. Kumar A, Sen AP, Saxena PR, Gulati A. Resuscitation with diaspirin crosslinked hemoglobin increases cerebral and renal blood perfusion in hemorrhaged rats.  
Artificial cells blood substitutes and immobilization biotechnology 1997;25: 85-94.
115. Kuo PC, Alfrey EJ, Abe KY, Huie P, Sibley RK, Dafoe DC. Cellular localization and effect of nitric oxide synthesis in a rat model of orthotopic liver transplantation.  
Transplantation 1996;61: 305-312.
116. Kuo PC, Alfrey EJ, Krieger NR et al. Differential localization of allograft nitric oxide synthesis: comparison of liver and heart transplantation in the rat model.  
Immunology 1996;87: 647-653.
117. Kurose I, Wolf R, Grisham MB, Granger DN. Modulation of ischemia/reperfusion-induced microvascular dysfunction by nitric oxide.  
Circ Res 1994;74: 376-382.
118. Landan G, Bdolah A, Wollberg Z, Kochva E, Graur D. The evolutionary history of the sarafotoxin/endothelin/endothelin-like superfamily.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S517-S519.
119. Langle F, Roth E, Steininger R, Winkler S, Muhlbacher F. Arginase release following liver reperfusion. Evidence of hemodynamic action of arginase infusions.  
Transplantation 1995;59: 1542-1549.

120. Langrehr JM, Murase N, Markus PM et al. Nitric oxide production in host-versus-graft and graft-versus-host reactions in the rat.  
J Clin Invest 1992;90: 679-683.
121. Largiader F. Checkliste Organtransplantation.  
Thieme Verlag, 1999.
122. Larsen R. Anästhesie.  
Urban & Schwarzenberg; München - Wien - Baltimore, 1994.
123. Ledvina MA, Hart J, Bina S, Jing M, Muldoon S. Endothelin plays a role in contractions of isolated pig pulmonary vessels induced by dapsirin cross-linked hemoglobin.  
J Lab Clin Med 1999;133: 478-487.
124. Lee SY, Lee CY, Chen YM, Kochva E. Coronary vasospasm as the primary cause of death due to the venom of the burrowing asp, *Atractaspis engaddensis*.  
Toxicon 1986;24: 285-291.
125. Lefler AM, Lefler DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion.  
Cardiovasc Res 1996;32: 743-751.
126. Lemasters JJ, Ji S, Thurman RG. Centrilobular injury following hypoxia in isolated, perfused rat liver.  
Science 1981;213: 661-663.
127. Leone AM, Palmer RM, Knowles RG, Francis PL, Ashton DS, Moncada S. Constitutive and inducible nitric oxide synthases incorporate molecular oxygen into both nitric oxide and citrulline.  
J Biol Chem 1991;266: 23790-23795.
128. Lerman A, Click RL, Narr BJ et al. Elevation of plasma endothelin associated with systemic hypertension in humans following orthotopic liver transplantation.  
Transplantation 1991;51: 646-650.
129. Liu P, Xu B, Hock CE, Nagele R, Sun FF, Wong PY. NO modulates P-selectin and ICAM-1 mRNA expression and hemodynamic alterations in hepatic I/R.  
Am J Physiol 1998;275: H2191-H2198.
130. Loscalzo J. Nitric oxide: biologic and medical implications.  
Harrison's principles of internal medicine. 1998.

131. Lundberg JM, Ahlborg G, Hemsén A et al. Evidence for release of endothelin-1 in pigs and humans.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S350-S353.
132. Lundvall J, Mellander S, White T. Hyperosmolality and vasodilatation in human skeletal muscle.  
Acta Physiol Scand 1969;77: 224-233.
133. Luscher TF, Yang Z, Tschudi M et al. Interaction between endothelin-1 and endothelium-derived relaxing factor in human arteries and veins.  
Circ Res 1990;66: 1088-1094.
135. Malcolm D, Kissinger D, Garrioch M. Diaspirin cross-linked hemoglobin solution as a resuscitative fluid following severe hemorrhage in the rat.  
Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol 1992;20: 495-497.
136. Marzi I, Takei Y, Rucker M et al. Endothelin-1 is involved in hepatic sinusoidal vasoconstriction after ischemia and reperfusion.  
Transpl Int 1994;7 Suppl 1S503-6: -6.
137. Masaki T, Yanagisawa M, Goto K, Kimura S. Role of endothelin in mechanisms of local blood pressure control.  
J Hypertens Suppl 1990;8: S107-S112.
138. Masatsugu K, Itoh H, Chun TH et al. Physiologic shear stress suppresses endothelin-converting enzyme-1 expression in vascular endothelial cells.  
J Cardiovasc Pharmacol 1998;31 Suppl 1: S42-S45.
139. Matsumura Y, Ikegawa R, Hisaki K, Tsukahara Y, Takaoka M, Morimoto S. Conversion of big endothelin-1 to endothelin-1 by phosphoramidon-sensitive metalloproteinase derived from aortic endothelial cells.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S65-S67.
140. Mazzoni MC, Borgstrom P, Arfors KE, Intaglietta M. Dynamic fluid redistribution in hyperosmotic resuscitation of hypovolemic hemorrhage.  
Am J Physiol 1988;255: H629-H637.
141. Mazzoni MC, Warnke KC, Arfors KE, Skalak TC. Capillary hemodynamics in hemorrhagic shock and reperfusion: in vivo and model analysis.  
Am J Physiol 1994;267: H1928-H1935.
142. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury.  
N Engl J Med 1985;312: 159-163.

143. Mehrabi A, Kraus TW, Klar E et al. Analysis of extravascular endothelin levels in UW solution and rinsing effluent of porcine liver grafts after cold storage. *Transplant Proc* 1995;27: 2613-2615.
144. Meisner FG, Kemming GI, Habler OP et al. Diaspirin crosslinked hemoglobin enables extreme hemodilution beyond the critical hematocrit. *Crit Care Med* 2001;29: 829-838.
145. Messmer K. Schock. In: Siegenthaler W, ed. *Klinische Pathophysiologie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart - New York, 1994.
146. Messmer K, Kreimeier U. Microcirculatory therapy in shock. *Resuscitation* 1989;18 Suppl: S51-S61.
147. Miller VM, Komori K, Burnett-JC J, Vanhoutte PM. Differential sensitivity to endothelin in canine arteries and veins. *Am J Physiol* 1989;257: H1127-H1131.
148. Mitsuoka H, Suzuki S, Sakaguchi T et al. Contribution of endothelin-1 to microcirculatory impairment in total hepatic ischemia and reperfusion injury. *Transplantation* 1998;67: 514-520.
149. Mittal MK, Gupta TK, Lee FY, Sieber CC, Groszmann RJ. Nitric oxide modulates hepatic vascular tone in normal rat liver. *Am J Physiol* 1994;267: G416-G422.
150. Miyazaki H, Kondoh M, Watanabe H, Shibata T, Masuda Y, Murakami K. Characterization of endothelin receptor subtypes. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17 Suppl 7: S122-S123.
151. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med* 1999;92: 164-169.
152. Monnier-de-Gouville AC, Caverio I. Differential pharmacological profile of endothelin-1 and its precursor, big endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17 Suppl 7: S362-S365.
153. Mortensen LH, Fink GD. Hemodynamic effect of human and rat endothelin administration into conscious rats. *Am J Physiol* 1990;258: H362-H368.
154. Murphy MP. Nitric oxide and cell death. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411: 401-414.

155. Mutschler M, Schaefer-Korting. Arzneimittelwirkungen.  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbh Stuttgart, 1997.
156. N'Diaye N, Pueyo ME, Battle T, Ossart C, Guedin D, Michel JB. Conversion of big-endothelin-1 elicits an endothelin ETA receptor-mediated response in endothelial cells.  
Eur J Pharmacol 1997;321: 387-396.
157. Nakahashi T, Fukuo K, Nishimaki H et al. Endothelin-1 enhances nitric oxide-induced cell death in cultured vascular smooth-muscle cells.  
J Cardiovasc Pharmacol 1998;31 Suppl 1: S351-S353.
158. Nakamura S, Nishiyama R, Serizawa A et al. Hepatic release of endothelin-1 after warm ischemia. Reperfusion injury and its hemodynamic effect.  
Transplantation 1995;59: 679-684.
159. Odaka M. International Symposium on Red Cell Substitutes. 16-19 May 1989, San Francisco, California.  
Abstracts. Biomater Artif Cells Artif Organs 1989;17: 617-705.
160. Oertel WH. Zerebrale Ischämie. In: Siegenthaler W, ed. Klinische Pathophysiologie.  
Georg Thieme Verlag, 1994.
161. Ohkubo H, Fujioka H, Kamohara Y et al. Efficacy of endothelin-1 receptor antagonist for protecting the function of grafted livers from preservation-reperfusion injury in pigs.  
Transplant Proc 1997;29: 3467-3468.
162. Ohmori H, Dhar DK, Nakashima Y, Hashimoto M, Masumura S, Nagasue N. Beneficial effects of FK409, a novel nitric oxide donor, on reperfusion injury of rat liver.  
Transplantation 1998;66: 579-585.
163. Okumura S, Takei Y, Kawano S et al. Vasoactive effect of endothelin-1 on rat liver in vivo.  
Hepatology 1994;19: 155-161.
164. Oldhafer KJ, Hauss J, Gubernatis G, Pichlmayr R, Spiegel HU. Liver transplantation in pigs: a model for studying reperfusion injury.  
J Invest Surg 1993;6: 439-450.

165. Oldhafer KJ, Schuttler W, Lang H, Spiegel HU, Hauss J, Pichlmayr R. Analyse der Leberhamodynamik beim schweren Ischämie- und Reperfusionsschaden nach Lebertransplantation.  
Zentralbl Chir 1994;119: 317-321.
166. Onizuka M, Miyauchi T, Morita R et al. Increased plasma concentrations of endothelin-1 during and after pulmonary surgery.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S402-S403.
167. Opgenorth TJ, Wu WJ, Shiosaki K. Endothelin-converting enzymes.  
FASEB J 1992;6: 2653-2659.
168. Ota K, Kimura T, Shoji M et al. Effects of endothelin-induced nitric oxide on venous circulation and renal water-electrolyte handling.  
J Cardiovasc Pharmacol 1998;31 Suppl 1: S128-S132.
169. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine.  
Nature 1988;333: 664-666.
170. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor.  
Nature 1987;327: 524-526.
171. Pannen BH, Al Adili F, Bauer M, Clemens MG, Geiger KK. Role of endothelins and nitric oxide in hepatic reperfusion injury in the rat.  
Hepatology 1998;27: 755-764.
172. Pannen BH, Bauer M, Noldge-Schomburg GF et al. Regulation of hepatic blood flow during resuscitation from hemorrhagic shock: role of NO and endothelins.  
Am J Physiol 1997;272: H2736-H2745.
173. Patel MJ, Webb EJ, Shelbourn TE et al. Absence of immunogenicity of diaspirin cross-linked hemoglobin in humans.  
Blood 1998;91: 710-716.
174. Peralta C, Rull R, Rimola A et al. Endogenous nitric oxide and exogenous nitric oxide supplementation in hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat.  
Transplantation 2001;71: 529-536.
175. Pernow J, Franco CA, Matran R, Lundberg JM. Effect of endothelin-1 on regional vascular resistances in the pig.  
J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl 5: S205-S206.

176. Pernow J, Uriuda Y, Wang QD, Li XS, Nordlander R, Rydeen L. The protective effect of L-arginine on myocardial injury and endothelial function following ischaemia and reperfusion in the pig.  
Eur Heart J 1994;15: 1712-1719.
177. Pinsky DJ, Naka Y, Chowdhury NC et al. The nitric oxide/cyclic GMP pathway in organ transplantation: critical role in successful lung preservation.  
Proc Natl Acad Sci U S A 1994;91: 12086-12090.
178. Pinsky DJ, Oz MC, Koga S et al. Cardiac preservation is enhanced in a heterotopic rat transplant model by supplementing the nitric oxide pathway.  
J Clin Invest 1994;93: 2291-2297.
179. Piper IR, Garrioch MA, Souter MJ, Andrews PJD, Thomson D. Effects of diaspirin cross-linked haemoglobin on post-traumatic cerebral perfusion pressure and blood flow in a rodent model of diffuse brain injury.  
British journal of anaesthesia 1998;80: 639-643.
180. Podolsky DK, Isselbacher KJ. Evaluation of liver function.  
Harrison's principles of internal medicine. 1998.
181. Prough DS, Johnson JC, Stump DA, Stullken EH, Poole-GV J, Howard G. Effects of hypertonic saline versus lactated Ringer's solution on cerebral oxygen transport during resuscitation from hemorrhagic shock.  
J Neurosurg 1986;64: 627-632.
182. Prough DS, Whitley JM, Taylor CL, Deal DD, DeWitt DS. Small-volume resuscitation from hemorrhagic shock in dogs: effects on systemic hemodynamics and systemic blood flow.  
Crit Care Med 1991;19: 364-372.
183. Przybelski RJ, Daily EK, Kisicki JC, MattiaGoldberg C, Bounds MJ, Colburn WA. Phase I study of the safety and pharmacologic effects of diaspirin cross-linked hemoglobin solution.  
Critical care medicine 1996;24: 1993-2000.
184. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide.  
Arch Biochem Biophys 1991;288: 481-487.

185. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Br J Pharmacol* 1987;92: 181-187.
186. Rakugi H, Tabuchi Y, Nakamaru M et al. Evidence for endothelin-1 release from resistance vessels of rats in response to hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;169: 973-977.
187. Ramadori G, Veit T, Schwogler S et al. Expression of the gene of the alpha-smooth muscle-actin isoform in rat liver and in rat fat-storing (ITO) cells. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1990;59: 349-357.
188. Ramwell P, Thomas G. Nitric oxide and its role in transplantation. *Transplant Proc* 1995;27: 2074-2076.
189. Reah G, Bodenham AR, Mallick A, Daily EK, Przybelski RJ. Initial evaluation of diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb(TM)) as a vasopressor in critically ill patients. *Critical care medicine* 1997;25: 1480-1488.
190. Rich S. Primary pulmonary hypertension. *Harrison's principles of internal medicine*. 1998.
191. Rockey DC, Boyles JK, Gabbiani G, Friedman SL. Rat hepatic lipocytes express smooth muscle actin upon activation in vivo and in culture. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1992;24: 193-203.
192. Roessner A, Schmid K-W, Kirkpatrick CJ. Pathogenese des Schocks. In: Böcker W, Denk H, Heitz PhU, eds. *Pathologie*. Urban & Fischer, 2001: 236-239.
193. Rubanyi GM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *J Cell Biochem* 1991;46: 27-36.
194. Russell FD, Skepper JN, Davenport AP. Endothelin peptide and converting enzymes in human endothelium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31 Suppl 1: S19-S21.
195. Rutishauser W, Krayenbühl HP. Herz. In: Siegenthaler W, ed. *Klinische Pathophysiologie*. GeorgThieme Verlag Stuttgart, 1994.

196. Saito A, Matsuno N, Kozaki K et al. Changes in plasma nitrite/nitrate level after orthotopic liver transplantation in pigs.  
Transplant Proc 1996;28: 1761-1762.
197. Saito T, Itoh H, Chun T et al. Oxidative stress suppresses the endothelial secretion of endothelin.  
J Cardiovasc Pharmacol 1998;31 Suppl 1: S345-S347.
198. Sakurai T, Yanagisawa M, Masaki T. Molecular characterization of endothelin receptors.  
Trends Pharmacol Sci 1992;13: 103-108.
199. Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y et al. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor.  
Nature 1990;348: 732-735.
200. Sanchez-Ferrer CF, Burnett-JC J, Lorenz RR, Vanhoutte PM. Possible modulation of release of atrial natriuretic factor by endothelium-derived relaxing factor.  
Am J Physiol 1990;259: H982-H986.
201. Sawamura T, Kasuya Y, Matsushita Y et al. Phosphoramidon inhibits the intracellular conversion of big endothelin-1 in cultured endothelial cells.  
Biochem Biophys Res Commun 1991;174(2): 779-784.
202. Saxena R, Wijnhoud AD, tVeld AJMI et al. Effect of diaspirin cross-linked hemoglobin on endothelin-1 and blood pressure in acute ischemic stroke in man.  
Journal of hypertension 1998;16: 1459-1465.
203. Schmidt HH, Nau H, Wittfoht W et al. Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide.  
Eur J Pharmacol 1988;154: 213-216.
204. Schultz SC, Grady B, Cole F, Hamilton I, Burhop K, Malcolm DS. A role for endothelin and nitric oxide in the pressor response to diaspirin cross-linked hemoglobin.  
J Lab Clin Med 1993;122: 301-308.
205. Scommotau S, Uhlmann D, Loffler BM, Breu V, Spiegel HU. Involvement of endothelin/nitric oxide balance in hepatic ischemia/reperfusion injury.  
Langenbecks Arch Surg 1999;384: 65-70.

206. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2001;181: 160-166.
207. Sethi S, Dikshit M. Modulation of polymorphonuclear leukocytes function by nitric oxide. *Thromb Res* 2000;100: 223-247.
208. Sharma AC, Gulati A. Effect of diaspirin cross-linked hemoglobin and norepinephrine on systemic hemodynamics and regional circulation in rats. *J Lab Clin Med* 1994;123: 299-308.
209. Sharma AC, Singh G, Gulati A. Role of NO mechanism in cardiovascular effects of diaspirin cross-linked hemoglobin in anesthetized rats. *Am J Physiol* 1995;269: H1379-H1388.
210. Shiba R, Yanagisawa M, Miyauchi T et al. Elimination of intravenously injected endothelin-1 from the circulation of the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13 Suppl 5: S98-101.
211. Shibayama Y, Nakata K. Localization of increased hepatic vascular resistance in liver cirrhosis. *Hepatology* 1985;5: 643-648.
212. Shichiri M, Hirata Y, Marumo F. Endothelin-1 as an autocrine/paracrine factor for human tumor cell lines. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17 Suppl 7: S76-S78.
213. Shiraishi M, Hiroyasu S, Nagahama M et al. Role of exogenous L-arginine in hepatic ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 1997;69: 429-434.
214. Shiraishi M, Hiroyasu S, Nagahama M et al. Role of exogenous L-arginine in hepatic ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 1997;69: 429-434.
215. Shiratori Y, Ohmura K, Hikiba Y et al. Hepatocyte nitric oxide production is induced by Kupffer cells. *Dig Dis Sci* 1998;43: 1737-1745.
216. Silbernagl S, Lang F. *Taschenatlas der Pathophysiologie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart - New York, 1998.

217. Simonson MS, Herman WH, Knauss TC, Schulak JA, Hricik DE. Macrophages - but not T-cell - derived cytokines stimulate endothelin-1 secretion by endothelial cells.  
Transplantation proceedings 1999;31: 806-807.
218. Sinzinger H, Fitscha P, O'Grady J, Rauscha F, Rogatti W, Vane JR. Synergistic effect of prostaglandin E1 and isosorbide dinitrate in peripheral vascular disease.  
Lancet 1990;335: 627-628.
219. Sloan EP, Koenigsberg M, Gens D et al. Diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock - A randomized controlled efficacy trial.  
JAMA Journal of the american medical association 1999;282: 1857-1864.
220. Smith GJ, Kramer GC, Perron P, Nakayama S, Gunther RA, Holcroft JW. A comparison of several hypertonic solutions for resuscitation of bled sheep.  
J Surg Res 1985;39: 517-528.
221. Snyder SR, Welty EV, Walder RY, Williams LA, Walder JA. HbXL99 alpha: a hemoglobin derivative that is cross-linked between the alpha subunits is useful as a blood substitute.  
Proc Natl Acad Sci U S A 1987;84: 7280-7284.
222. Stewart AG, Barker JE. Organ ischaemia-reperfusion injury: the role and therapeutic potential of nitric oxide. In: Mathie RT, Griffith TM, eds. The Haemodynamic effects of Nitric Oxide.  
London: Imperial College Press, 1999: 367-395.
223. Stewart AG, Barker JE, Hickey MJ. Nitric oxide in ischaemia-reperfusion injury. In: Grace PA, Mathie RT, eds. Ischaemia-Reperfusion Injury.  
Oxford: Blackwell Science, 1999: 180-195.
224. Suematsu M, Oda M, Suzuki H et al. Intravital and electron microscopic observation of Ito cells in rat hepatic microcirculation.  
Microvasc Res 1993;46: 28-42.
225. Sugioka A, Morita M, Esaki T, Soga R, Hasumi A. Kinetics and significance of graft tissue nitric oxide after rat and mouse liver transplantation.  
Transplant Proc 1999;31: 860-862.

226. Takasaki C, Tamiya N, Bdolah A, Wollberg Z, Kochva E. Sarafotoxins S6: several isotoxins from *Atractaspis engaddensis* (burrowing asp) venom that affect the heart.  
*Toxicon* 1988;26: 543-548.
227. Takayanagi R, Liu W, Ito T, Ohnaka K, Nawata H. Big endothelin analogues with inhibitory activity on endothelin-converting enzyme-1.  
*J Cardiovasc Pharmacol* 1998;31 Suppl 1: S62-S63.
228. Takuwa Y, Kasuya Y, Takuwa N et al. Endothelin receptor is coupled to phospholipase C via a pertussis toxin-insensitive guanine nucleotide-binding regulatory protein in vascular smooth muscle cells.  
*J Clin Invest* 1990;85: 653-658.
229. Takuwa Y, Yanagisawa M, Takuwa N, Masaki T. Endothelin, its diverse biological activities and mechanisms of action.  
*Prog Growth Factor Res* 1989;1: 195-206.
230. Tanabe S, Ueda M, Han YS et al. Up-regulation of endothelin-converting enzyme during the development of transplant renal arteriosclerosis in human renal allografts.  
*Transplant Proc* 1997;29: 1517-1519.
231. Tanaka S, Kamiike W, Ito T et al. Evaluation of nitric oxide during acute rejection after heart transplantation in rats.  
*Transplant Proc* 1995;27: 576-577.
232. Tanaka W, Yamanaka N, Onishi M, Ko M, Yamanaka J, Okamoto E. Optimal route of administration of mixed endothelin receptor antagonist (TAK-044) in liver transplantation.  
*Journal of gastroenterology* 2000;35: 120-126.
233. Textor SC, Wilson DJ, Lerman A et al. Renal hemodynamics, urinary eicosanoids, and endothelin after liver transplantation.  
*Transplantation* 1992;54: 74-80.
234. Thiel G. Akutes Nierenversagen. In: Siegenthaler W, ed. *Klinische Pathophysiologie*.  
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1994.

235. Uchihara M, Izumi N, Sato C, Marumo F. Clinical significance of elevated plasma endothelin concentration in patients with cirrhosis. *Hepatology* 1992;16: 95-99.
236. Urakami A, Todo S, Zhu Y et al. Attenuation of ischemic liver injury by monoclonal anti-endothelin antibody, AwETN40. *J Am Coll Surg* 1997;185: 358-364.
237. van-der-Walle CF, Barlow DJ. Investigations of structural requirements for endothelin antagonism. *Curr Med Chem* 1998;5: 321-335.
238. Vandegriff KD, Medina F, Marini MA, Winslow RM. Equilibrium oxygen binding to human hemoglobin cross-linked between the alpha chains by bis(3,5-dibromosalicyl) fumarate. *J Biol Chem* 1989;264: 17824-17833.
239. Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, Post S, Menger MD. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am J Pathol* 1994;145: 1421-1431.
240. Vollmar B, Glasz J, Post S, Menger MD. Role of microcirculatory derangements in manifestation of portal triad cross-clamping-induced hepatic reperfusion injury. *Journal of surgical research* 1996;60: 49-54.
241. Vollmar B, Janata J, Yamauchi JI, Menger MD. Attenuation of microvascular reperfusion injury in rat pancreas transplantation by L-arginine. *Transplantation* 1999;67: 950-955.
242. Vollmar B, Lang G, Menger MD, Messmer K. Hypertonic hydroxyethyl starch restores hepatic microvascular perfusion in hemorrhagic shock. *Am J Physiol* 1994;266: H1927-H1934.
243. Vollmar B, Preissler G, Menger MD. Small-volume resuscitation restores hemorrhage-induced microcirculatory disorders in rat pancreas. *Critical care medicine* 1996;24: 445-450.

244. Watanabe TX, Itahara Y, Nakajima K, Kumagaye S, Kimura T, Sakakibara S. The biological activity of endothelin-1 analogues in three different assay systems.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S5-S9.
245. Watanabe Y, Naruse M, Monzen C et al. Is big endothelin converted to endothelin-1 in circulating blood?  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S503-S505.
246. Weinberger SE, Drazen JM. Disturbances of respiratory function.  
Harrison's principles of internal medicine. 1998.
247. Weitzberg E. Circulatory responses to endothelin-1 and nitric oxide with special reference to endotoxin shock and nitric oxide inhalation.  
Acta Physiol Scand Suppl 1993;611: 1-72.
248. White DG, Cannon TR, Garratt H, Mundin JW, Sumner MJ, Watts IS. Endothelin ETA and ETB receptors mediate vascular smooth-muscle contraction.  
J Cardiovasc Pharmacol 1993;22 Suppl 8: S144-S148.
249. Wink DA, Kasprzak KS, Maragos CM et al. DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors.  
Science 1991;254: 1001-1003.
250. Withrington PG, de Nucci G, Vane JR. Endothelin-1 causes vasoconstriction and vasodilation in the blood perfused liver of the dog.  
J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl 5: S209-S210.
251. Witzigmann H, Uhlmann D, Senninger N, Hauss J, Spiegel H. Endothelin converting enzyme protects postischemic liver.  
Transplant Proc 2001;33: 866.
252. Yadav SS, Howell DN, Gao W, Steeber DA, Harland RC, Clavien PA. L-selectin and ICAM-1 mediate reperfusion injury and neutrophil adhesion in the warm ischemic mouse liver.  
Am J Physiol 1998;275: G1341-G1352.
253. Yamanaka N, Takaya Y, Oriyama T et al. Hepatoprotective effect of a nonselective endothelin receptor antagonist (TAK-044) in the transplanted liver.  
J Surg Res 1997;70: 156-160.

254. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells.  
Nature 1988;332: 411-415.
255. Yano M, Okada K, Takada J et al. Endothelin-converting enzyme and its in vitro and in vivo inhibition.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S26-S28.
256. Yoshizumi M, Kurihara H, Morita T et al. Interleukin 1 increases the production of endothelin-1 by cultured endothelial cells.  
Biochem Biophys Res Commun 1990;166: 324-329.
257. Yu ST, Yu CC, Wong HW, Yuan HT. Effect of endothelin-1 on the vascular smooth muscle cell cycle.  
J Cardiovasc Pharmacol 1991;17 Suppl 7: S239-S241.
258. Zhang JX, Pegoli W, Clemens MG. Endothelin-1 induces direct constriction of hepatic sinusoids.  
Am J Physiol 1994;266: G624-G632.

---

## **Danksagung**

Herrn Professor Dr. R. Viebahn danke ich für die Überlassung des Themas, seine stete Unterstützung und Förderung sowie für die angenehme Arbeitsatmosphäre und das entgegengebrachte Vertrauen während der Operationen.

Bei Dr. M. Schenk möchte ich mich für die Einarbeitung in die Experimente im Labor, seine ständige Bereitschaft zu Ratschlägen, fachlichen Diskussionen und die anhaltend konstruktive Kritik an meiner Arbeit bedanken.

An dieser Stelle möchte ich stellvertretend für das Team der Anästhesie Frau Dr. Lassak danken, die neben einer ausgezeichneten Narkose uns regelmäßig mit Leberkäsebrötchen und Senf versorgt hat.

Meinem langjährigen Freund Dr. G. Kadner danke ich für das Korrekturlesen dieser Arbeit und die guten Anregungen, die ich durch ihn erhielt.

Mein besonderer Dank geht an meinen sehr geschätzten Freund und Kollegen Dr. T. Sperschneider, der mir bei der Korrektur dieser Arbeit eine unschätzbare Hilfe war.

Selbstverständlich gilt mein herzlicher Dank auch allen anderen hier ungenannten Menschen, die mir bei der Entstehung dieser Arbeit geholfen haben.

---

# Curriculum vitae

## ***Persönliche Daten***

Name: Matthias Dettmer  
Geburtsort: 02.05.1975 in Tübingen  
Eltern: Gabriele Dettmer, geborene Böttcher  
Dr. med. Rolf Dettmer  
Adresse: Matthias Dettmer  
Zweierstrasse 15  
CH – 8004 Zürich  
[m.dettmer@gmx.net](mailto:m.dettmer@gmx.net)  
Telefonnummer: +41 44 255 1111 geschäftlich  
+41 76 52 78 058 privat

## ***Schule***

08/1981 - 07/1985 Grundschule Gültstein  
08/1985 - 06/1994 Schickhardt-Gymnasium Herrenberg

## ***Zivildienst***

08/1994 - 10/1995 OP-Abteilung der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen

## ***Studium***

10/1995 - 11/2002 Medizinstudium an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen  
08/1997 - 09/1997 Ärztliche Vorprüfung, Physikum  
03/1999 1.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
07/2000 - 12/2000 Medizinstudium an der Brown University, Providence,  
Rhode Island, USA  
09/2001 2.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
10/2001 - 02/2002 Innere Medizin an der Faculté de Médecine Cochin Port-Royal,  
Hôpital Cochin, Professeur B. Christoforov, Paris, Frankreich  
02/2002 - 06/2002 Pathologie am Kantonsspital St. Gallen, Institut für Pathologie,  
Professor Dr. med. U. Schmid, Schweiz  
06/2002 - 10/2002 Chirurgie am Lehrkrankenhaus Sigmaringen der Universität Tübingen,  
Dr. med. Bräuchle, Tübingen  
21/11/2002 3.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

---

## **Famulaturen und Auslandsstudium**

03/1998	Innere Medizin am Krankenhaus Prenzlauer Berg bei Herrn Prof. Dr. med. E. Pleger, Humboldt Universität Berlin
04/1998	Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Schwenzer, Universität Tübingen,
09/1999	Radiologie bei Herrn Prof. W. Lees, M.D., University College London Hospitals, England
08/2000	Neurologie bei Herrn Prof. Edward Feldmann, M.D., Brown University school of medicine, Providence RI, USA
09/2000	Chirurgie bei Herrn Prof. Greenberg, M.D., Brown University school of medicine, Providence RI, USA
10/2000	Innere Medizin bei Frau Prof. Valerie Stone, M.D., Brown University school of medicine, Providence RI, USA
11/2000	Anästhesie bei Herrn Prof. George Buszko, M.D., Brown University school of medicine, Providence RI, USA
12/2000	Emergency Room bei Herrn Prof. Marc Shapiro, M.D., Brown University school of medicine, Providence RI, USA

## **Forschung und Lehrtätigkeit**

05/1998 - 07/2000	Dissertation: "Reperfusionsschäden nach Lebertransplantation am Schweinemodell" bei Herrn Professor Dr. med. R. Viebahn, Allgemeinchirurgie, Universität Tübingen
10/1997 - 02/1998	Wissenschaftlicher Assistent am Anatomischen Institut bei Herrn Prof. Dr. med. U. Drews, Universität Tübingen

## **Arbeit**

01/2003 – 06/2004	Assistenzarzt am Institut für Pathologie am Kantonsspital St. Gallen, Professor Dr. med. U. Schmid, Schweiz
08/2004 – 12/2004	Assistenzarzt für Chirurgie/Orthopädie, Hôpital de la Providence, Neuchâtel, Dr. J.-J. Brugger, Schweiz
01/2005 – 01/2006	Assistenzarzt an der Klinik für Chirurgie, Kantonsspital Aarau Prof. Dr. R. Schlumpf, Schweiz
02/2006 – heute	Assistenzarzt am Institut für klinische Pathologie der Universität Zürich, Professor Dr. med. H. Moch, Schweiz

## **Fremdsprachen**

Englisch	sehr gut
Französisch	sehr gut

## **Interessen**

Musik (Klavier), Literatur, Sport (Ski, Rennrad)