

Aus der Klinik für Anaesthesiologie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
ehemaliger Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Klaus Peter
jetziger Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard Zwißler

**Einfluss der Anästhetika Sevofluran und Propofol auf die
Leberschädigung nach abdominaler Ischämie und Reperfusion**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Johannes Manfred Hilberath

aus Mainz

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. P. Conzen

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. A. Khandoga
Priv. Doz. Dr. med. M. Kleen

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. T. Annecke

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 11.11.2010

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	AORTALE GEFÄßANEURYSMEN	1
1.2	BEDEUTUNG DER VISZERALEN ISCHÄMIE-REPERFUSION IN DER AORTENCHIRURGIE	3
1.3	PATHOPHYSIOLOGIE DER THORAKALEN AORTENOKKLUSION	4
1.3.1	<i>Pathophysiologie des Ischämie-Reperfusionsschadens</i>	5
1.3.2	<i>Besonderheiten des hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens</i>	11
1.4	STRATEGIEN ZUR ORGANPROTEKTION WÄHREND TEMPORÄRER AORTENOKKLUSION	15
2	FRAGESTELLUNG UND HYPOTHESE	20
3	VERSUCHSTIERE UND METHODEN	21
3.1	GENEHMIGUNG	21
3.2	VERSUCHSMODELL	21
3.2.1	<i>Überblick</i>	21
3.2.2	<i>Versuchstiere</i>	22
3.2.3	<i>Prämedikation und Narkoseführung</i>	23
3.2.4	<i>Chirurgische Präparation</i>	23
3.2.5	<i>Versuchsgruppen</i>	26
3.2.6	<i>Randomisierung und Verblindung</i>	29
3.3	ZIELWERT-ORIENTIERTE THERAPIE UND INTERVENTIONEN	29
3.4	MESSZEITPUNKTE UND PROBENGEWINNUNG	31
3.4.1	<i>Blutentnahme und Verarbeitung</i>	32
3.4.2	<i>Gewebeentnahme und Verarbeitung</i>	33
3.5	ALLGEMEINE MESSPARAMETER.....	33
3.5.1	<i>Hämodynamik</i>	33
3.5.2	<i>Sauerstofftransport</i>	34
3.5.3	<i>Hämoglobinwert und Leukozyten</i>	36
3.5.4	<i>Laktatkonzentration und Aktivität des Enzyms LDH</i>	36
3.5.5	<i>Apoptosemarker</i>	36
3.6	ZIELPARAMETER.....	37
3.6.1	<i>Gallefluss</i>	37
3.6.2	<i>Aktivität der Leberenzyme AST, ALT und GLDH</i>	38

3.6.3	<i>Histopathologische Untersuchung eines Leberschnittes</i>	38
3.6.4	<i>Wet/Dry-Ratio</i>	38
3.6.5	<i>Granulozyteninfiltration</i>	39
3.7	STATISTIK	39
4	ERGEBNISSE	41
4.1	GALLEFLUSS	41
4.2	ENZYMAKTIVITÄTEN AST, ALT UND GLDH	42
4.3	LEBERHISTOLOGIE	44
4.4	WET/DRY-RATIO	45
4.5	GRANULOZYTENINFILTRATION	45
4.6	HÄMODYNAMIK.....	46
4.7	SAUERSTOFFTRANSPORT	50
4.8	HÄMOGLOBINWERT UND LEUKOZYTENZAHL	52
4.9	LAKTATKONZENTRATION UND ENZYMAKTIVITÄT LDH.....	53
4.10	APOPTOSEMARKER	55
4.10.1	<i>TUNEL-Färbung</i>	55
4.10.2	<i>Caspase-3-Assay</i>	56
5	DISKUSSION	57
5.1	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	57
5.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	58
5.2.1	<i>Gallefluss</i>	58
5.2.2	<i>Enzymaktivitäten AST, ALT und GLDH</i>	60
5.2.3	<i>Leberhistologie</i>	62
5.2.4	<i>Wet/Dry-Ratio</i>	64
5.2.5	<i>Granulozyteninfiltration</i>	66
5.2.6	<i>Hämodynamik und Sauerstofftransport</i>	68
5.2.7	<i>Laktatkonzentration und Enzymaktivität LDH</i>	75
5.2.8	<i>Apoptosemarker</i>	76
5.3	DISKUSSION DES STUDIENDESIGNS UND VERSUCHPROTOKOLLS.....	79
5.4	SCHLUSSFOLGERUNG.....	82
6	ZUSAMMENFASSUNG	83

7	LITERATURVERZEICHNIS	85
8	PUBLIKATIONEN	99
9	DANKSAGUNG	100

Abkürzungsverzeichnis

AAD	akute Aortendissektion
Abb.	Abbildung
ADP	Adenosindiphosphat
ANOVA	Analysis of variance between groups, univariate Varianzanalyse
AMP	Adenosinmonophosphat
ALT	Alanin-Aminotransferasenaktivität
APC	anästhesieinduzierte Präkonditionierung
AST	Aspartat-Aminotransferasenaktivität
ATP	Adenosintriphosphat
BE	base excess, Basenabweichung
BGA	Blutgasanalyse
CD	Cluster of Differentiation, „Unterscheidungsgruppe“ immunphänotypischer Oberflächenmerkmale
CO	cardiac output, Herzauswurfleistung
CO ₂	Kohlendioxid
CpvO ₂	portalvenöser Sauerstoffgehalt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DO ₂	Sauerstoffangebot
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
Fa.	Firma
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
Fluss _{portal}	portalvenöser Blutfluss (l x min ⁻¹)
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GM-CSF	Granulozyten Makrophagen-Kolonien-stimulierenden Faktor
Hb	Hämoglobin
HE	Hämatoxylin-Eosin
HF	Herzfrequenz
HI	Herzindex
HIF-1	Hypoxie-induzierter Faktor-1
HO-1	Hämoxygenase-1

Hsp32	Hitzeschockprotein 32
HZV	Herzzeitvolumen
i.v.	intravenös
ICAM-1, -2, -3	intercellular adhesion molecule, interzelluläres Adhäsionsmolekül-1, -2, -3
IFN- γ	Interferon-gamma
IL-1, -6	Interleukin-1, -6
IPC	ischämische Präkonditionierung
I/R-Gruppe(n)	Ischämie-Reperfusion(s)gruppe(n)
JAM-A	junctional adhesion molecule-A
KG	Körpergewicht
LDH	Laktatdehydrogenase
LPS	Lipopolysaccharid
MAC	minimale alveoläre Konzentration
MAP	mean arteriell pressure, mittlerer arterieller Blutdruck
MAPK	mitogenaktivierte Proteinkinase
MDA	Malondialdehyd
MODS	multiple organ dysfunction syndrome, Multiorganversagen
MPO	Myeloperoxidase
mPTP	mitochondriale „permeability transition“-Poren
MZP	Messzeitpunkt
NF- κ B	Nukleärer Faktor kappa B
NO	Stickstoffmonoxid
O ₂ -ER	Sauerstoffextraktion
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
P-I/R	Propofol-I/R-Gruppe
P-VoO	Propofol-Versuchsgruppe ohne aortale Okklusion
PAF	platelet activating factor, plättchenaktivierender Faktor
PBS	Phosphate buffered salt solution, phosphatgepufferte Salzlösung
PCWP	pulmonalkapillärer Verschlussdruck
PECAM-1	platelet endothelial cell adhesion molecule-1, Thrombozyten-Endothelzell-Adhäsionsmolekül-1
PEEP	positiv end-expiratorischer Druck

PiCCO	pulse contour cardiac output, Pulskontur-Herzeitvolumen
PKC	Proteinkinase C
PMN	polymorphkernige neutrophile Granulozyten
PTK	Protein Tyrosin Kinase
ROS	reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies
S-I/R	Sevofluran-I/R-Gruppe
S-VoO	Sevofluran-Versuchsgruppe ohne aortale Okklusion
SD	standard deviation, Standardabweichung
Sevo	Sevofluran
SIRS	systemic inflammatory response syndrome, systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
SVR	systemischer Gefäßwiderstand
TAA	thorakales Aortenaneurysma
TNF- α , - β	Tumor Nekrose Faktor- α , - β
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick-end-labeling
VCAM	vascular cellular adhesion molecule
VO ₂	Sauerstoffverbrauch
VoO-Gruppe(n)	Versuchsgruppe(n) ohne aortale Okklusion
vs.	versus
XDH	Xanthin-Dehydrogenase
XO	Xanthin-Oxidase
ZVD	zentraler Venendruck

1 Einleitung

1.1 Aortale Gefäßaneurysmen

Die Prävalenz aortaler Aneurysmen liegt bei Personen über 65 Jahren im Bereich von 5%. In etwa 25% der Fälle bezieht das Aneurysma thorakale oder suprarenale Gefäßsegmente mit ein¹⁵⁷. Das Risiko der Ruptur steigt mit dem Durchmesser der Aneurysmata. Von 3000 retrospektiv ausgewerteten Patienten mit thorakalem Aortenaneurysma (TAA) erlitten 34% eine Dissektion oder Ruptur, sobald der Durchmesser sechs Zentimeter erreichte⁵⁴.

Die Inzidenz der akuten Aortendissektion (AAD) wird auf 2,9 bis 3,5 pro 100.000 Personenjahre geschätzt¹³². Da die akute Dissektion klinisch als fatal verlaufender Myokardinfarkt fehlgedeutet werden kann, ist davon auszugehen, dass die tatsächliche Inzidenz höher liegt⁶⁶.

Die Mortalität der unbehandelten Aortendissektion beträgt über 50% und wird mit bis zu 1% pro Stunde angegeben¹⁵³. Insbesondere die Dissektion vom Stanford-Typ A ist mit einer hohen Frühletalität verbunden. Trotz chirurgischer Intervention liegt die Mortalitätsrate innerhalb der ersten 24 Stunden bei 10%, innerhalb von sieben Tagen bei 13% und innerhalb von 30 Tagen bei fast 20% (Abb. 1)⁶⁸. Grundmann et al. geben die operative Letalität einer akuten Typ-A-Aortendissektion mit ca. 15-20% und für die akute Typ-B-Aortendissektion mit 20-30% an⁶⁶.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit ist somit trotz der Fortschritte in Bereichen der Diagnostik, der therapeutischen Techniken und des postoperativen Managements weiterhin nicht zufrieden stellend¹⁷⁰.

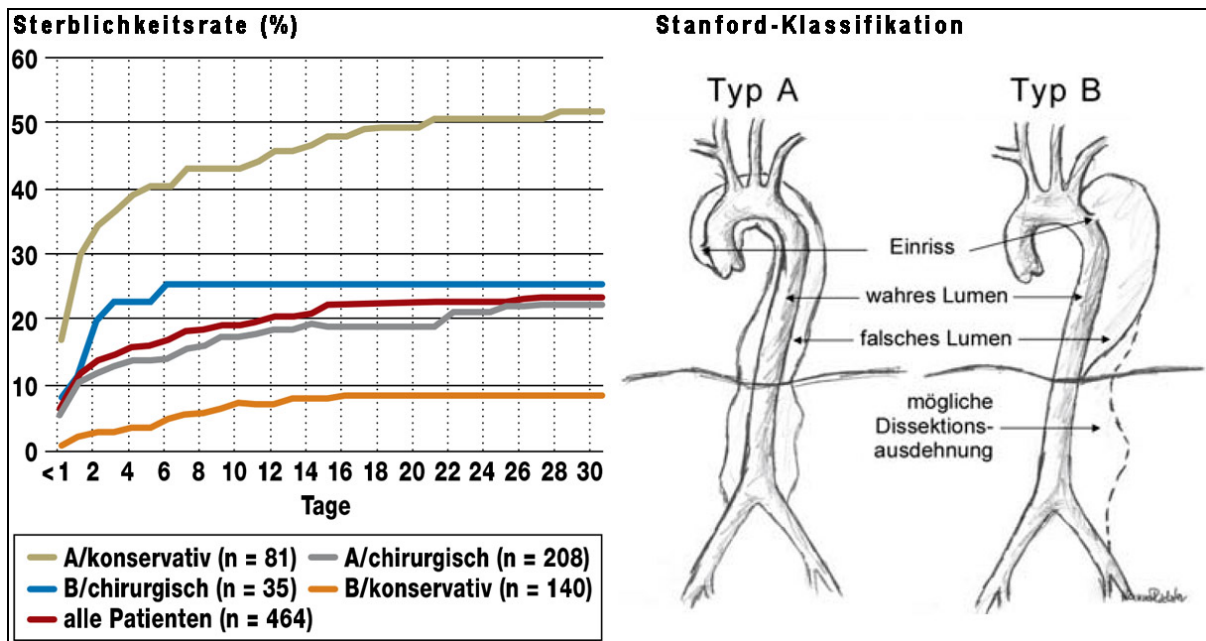


Abb. 1: (links) 30-Tage-Sterblichkeit konservativ bzw. chirurgisch behandelter Patienten mit Typ-A- und Typ-B-Aortendissektion. (rechts) Stanford-Klassifikation. Typ A: alle Dissektionen, die die ascendierende Aorta betreffen, Typ B: alle Dissektionen ohne Beteiligung der ascendierenden Aorta. Modifiziert nach Weigang et al., 2008^[188].

Die akute Aortendissektion ist die häufigste aortale Gefäßerkrankung, welche einer notfallchirurgischen Versorgung bedarf⁶⁸. Aufgrund des steigenden Durchschnittsalters der Bevölkerung wird die Anzahl der Patienten, welche sich einer Aorten Chirurgie unterziehen müssen, voraussichtlich noch zunehmen.

Die Indikationen zur operativen Intervention eines thorakalen Aortenaneurysmas sind neben einer Aortenruptur oder akuten Dissektion der ascendierenden Aorta (Typ A) auch symptomatische Beschwerden, der absolute Aortendurchmesser und eine ausgeprägte Dynamik des Größenwachstums⁵⁴.

Die operative Therapie besteht in einer Resektion des Aneurysmas bzw. der Dissektion und Überbrückung des Defektes durch eine synthetische Prothese, gegebenenfalls kombiniert mit einem Herzklappenersatz. Zudem können die Wandschichten mit Hilfe eines speziellen Klebers readaptiert werden. Hierzu muss die Aorta ober- und unterhalb des Gefäßabschnittes temporär abgeklemmt werden.

Ein weiteres viel versprechendes Verfahren für komplizierte Typ-B-Aortendissektionen stellt in den letzten Jahren zunehmend die endovaskuläre Stentbehandlung dar. Sie kann den Blutfluss im echten Lumen wiederherstellen und gleichzeitig eine Thrombose im falschen

Lumen induzieren. Allerdings ist eine Stentimplantation nicht immer möglich und sinnvoll, beispielsweise wenn das Aortenlumen zu groß, der Gefäßeinriß zu nah an essentiellen Gefäßabgängen oder ein passender Stent nicht zur Verfügung steht¹⁵³. Zudem ist eine endovaskuläre Stentgraft-Implantation bei Typ-A-Aortendissektionen nicht möglich¹⁸⁸.

1.2 Bedeutung der viszeralen Ischämie-Reperfusion in der Aortenchirurgie

Das Auftreten viszeraler Ischämie und Reperfusion ist obligatorischer Bestandteil im Rahmen gefäßchirurgischer Eingriffe bei thorakoabdominalen Aortenaneurysmen¹⁹¹, welche die Notwendigkeit der temporären Gefäßabklemmung beinhalten. Sie ist mit einer hohen Mortalität und Morbidität verbunden^{60,64,69}. Neben einer postoperativen Sterblichkeit von 5-15% treten an Komplikationen pulmonale (20-47%) und renale (20-30%) Dysfunktion, Verbrauchskoagulopathie (20-30%) und Schädigung des Rückenmarks (5-15%) gehäuft auf¹⁹¹. Eine Auswertung von 1159 Operationen bei Aneurysmen der descendierenden bzw. thorakoabdominalen Aorta ergab, dass 7% der Patienten eine gastrointestinale Komplikation erlitten. Hierbei waren insbesondere Gallenwegserkrankungen (akute Cholezystitis oder Gallenwegsobstruktion), hepatische Dysfunktion (klinischer Ikterus, Transaminasenanstieg, Leberversagen) und Darmischämie mit einer signifikant höheren Mortalität verbunden⁴. Eine retrospektive Studie zur Morbidität nach Versorgung eines thorakoabdominalen Aneurysmas zeigte, dass 24,1% der 29 Patienten ein Leberversagen erlitten⁶⁹.

Morbidität und Mortalität des Patienten werden damit u.a. wesentlich vom Ausmaß der hepatozellulären Schädigung bestimmt¹⁹⁵.

Die Mortalität bei chirurgischer Versorgung abdominaler Aneurysmen liegt deutlich niedriger (1-15%) und unterstreicht den Einfluss der anatomischen Höhe, bei der die Aortenokklusion vorgenommen werden muss⁶⁰. Eine retrospektive Betrachtung von 549 Patienten, die einer Aortenaneurysmaoperation unterzogen wurden, zeigte, dass die perioperative Mortalität signifikant mit der Lokalisation der Klemme verknüpft ist (infrarenal 2,1%, suprarenal 3,0%, supraviszeral 10,8%)¹⁴.

In der gleichen Studie wiesen Back et al. darauf hin, dass die Dauer der viszeralen Ischämie als unabhängiger Prädiktor ebenfalls großen Einfluss auf die Rate an Komplikationen sowie

die Mortalität hat. Eine viszerale Ischämiezeit von über 40 Minuten Dauer war mit einer sehr hohen Inzidenz an viszeralen Komplikationen und Sterblichkeit assoziiert¹⁴.

Harward et al. betonten, dass Maßnahmen, welche die Dauer oder die systemischen Auswirkungen der viszeralen Ischämie reduzieren, nicht nur Morbidität und Mortalität, sondern auch die Gesamtkosten für das Krankenhaus signifikant senken würden⁶⁹.

1.3 Pathophysiologie der thorakalen Aortenokklusion

Das Abklemmen der thorakalen Aorta ist mit deutlichen Veränderungen in der systemischen Zirkulation verbunden (Abb. 2)^{60,162}. Neben einem ausgeprägten proximalen Hypertonus finden sich ein Anstieg des systemischen Gesamtwiderstandes und ein erhöhter linksventrikulärer Druck. Gleichzeitig kann die Herzauswurfleistung sinken, zunehmen oder unverändert bleiben. Zunächst kommt es durch die exzessive Katecholaminausschüttung zu einer Erhöhung des Herzzeitvolumens. Die Umverteilung des venösen Blutvolumens tritt distal der Okklusion zu Gunsten des proximalen Gefäßbettes ein. Dies hat ein erhöhtes pulmonales und intrakranielles Blutvolumen bei erhöhter Vorlast zur Folge. Kann mit zunehmender Dauer der Okklusion der erhöhte myokardiale Sauerstoffbedarf bei Patienten mit eingeschränkter Koronarreserve nicht gedeckt werden, können Kontraktilität und Herzzeitvolumen wieder abfallen^{60,90}.

Der Blutfluss durch die Organe distal der Okklusion fällt rapide ab und Ischämie sowie Hypoxie setzen ein.

Nach Öffnen der Klemme zeigen sich ein Abfall des Gefäßwiderstandes sowie des arteriellen Blutdruckes und eine reaktive Hyperämie im ehemaligen Ischämiegebiet. Die Herzauswurfleistung sinkt in der Regel ab⁶⁰.

Durch die Reperfusion des zunächst ausgeschalteten Versorgungsgebietes unterhalb der thorakalen Klemme kommt es zu einer Ischämie-Reperfusionssequenz mit Schädigung von Leber, Milz, Nieren und Rückenmark. Dies kann sich in neurologischen Ausfällen, Funktionseinschränkungen der betroffenen Organe oder der Induktion einer systemischen Inflammation äußern¹⁶⁷.

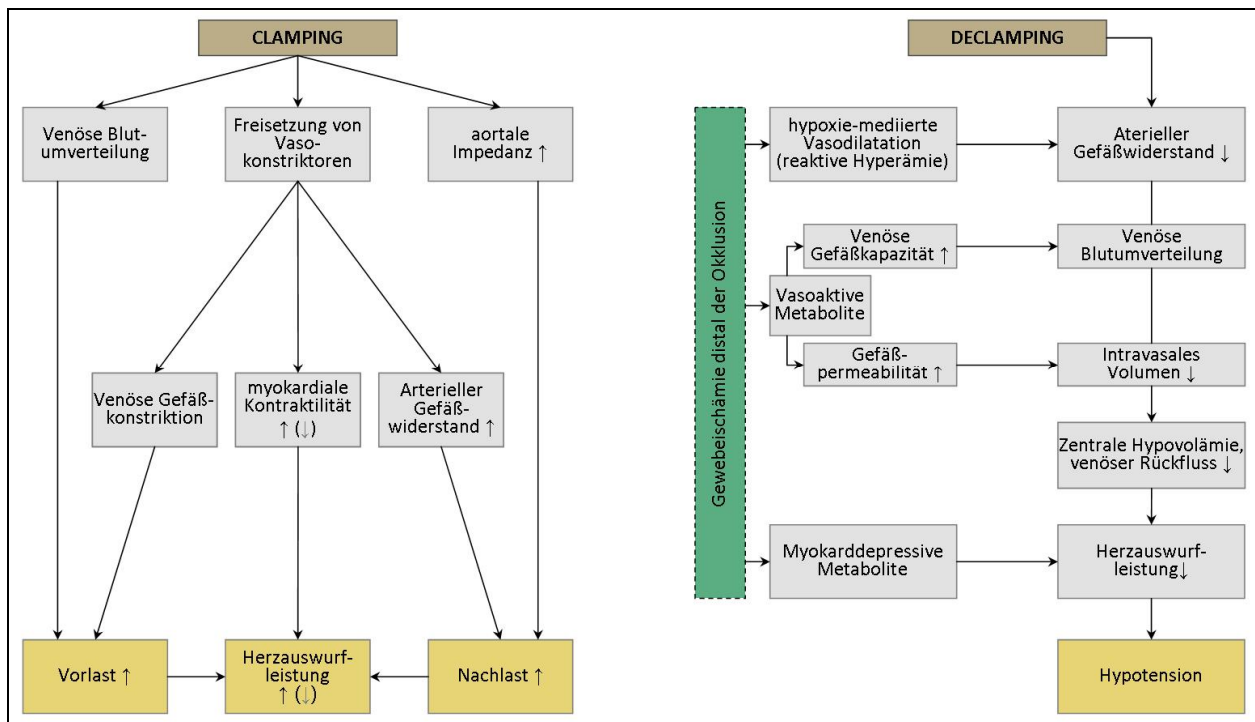


Abb. 2: Hämodynamische Veränderung bei Clamping- und Declamping-Manöver der thorakalen Aorta. Erläuterungen im Text. Modifiziert nach Gelman, 1995 [60].

1.3.1 Pathophysiologie des Ischämie-Reperfusionsschadens

Der Ischämie-Reperfusionsschaden beschreibt das Phänomen, bei dem ein ischämischer, z.B. durch temporäre Gefäßokklusion induzierter Schaden, mit Wiedereinsetzen des Blutflusses noch weiter verstärkt wird. Denn obwohl zur Erhaltung der Organfunktion die Wiederherstellung der Blutversorgung entscheidend ist, nimmt die Zellschädigung in der Reperusionsphase zu. Parks und Granger zeigten anhand histologischer Veränderungen, dass die feline Darmschleimhaut nach drei Stunden Ischämie gefolgt von 60 Minuten Reperfusion deutlich schwerer geschädigt war als nach vier Stunden Ischämie ohne Reperfusion¹⁵¹.

Ischämie und Hypoxämie sind begrifflich zu trennen. Ischämie kann als eine Reduktion des lokalen Blutflusses definiert werden, bei der das Sauerstoffangebot unter dem zur Aufrechterhaltung der Funktionen notwendigen Bedarf liegt¹⁵². Durch die Unterbrechung der Blutzufuhr (Ischämie) tritt sehr schnell eine Hypoxie des Gewebes ein, welche einen herausragenden Schritt in der Pathogenese des Ischämie-Reperfusionsschadens darstellt. Konsekutiv entwickeln sich – wie im Folgenden näher erläutert – ATP-Depletierung, Azidose, Zellschwellung, mikrovaskuläre Thrombose und Kapillarobstruktion. Dies bedingt das als

„no-reflow“-Phänomen bekannte Geschehen, bei dem es trotz einsetzender Reperfusion zu einem Fortbestehen der Hypoxie (Sauerstoffmangel im Gewebe) und weiterer Aggravierung des Schadens kommt.

Das Muster der komplexen Pathophysiologie von Ischämie und Reperfusion findet sich unter anderem bei Herzinfarkt, Schlaganfall, Kardiochirurgie, Organtransplantation und anderen operativen Eingriffen, die eine temporäre Blutsperre erfordern.

Zum speziell hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden kann es nach verschiedenen operativen Eingriffen kommen, die intraoperativ eine temporäre Unterbrechung des Leberblutflusses beinhalten. Dazu zählen Resektionen, beispielsweise von Lebertumoren, Versorgung von Lebertraumata, Lebertransplantationen, aber auch Eingriffe an der thorakalen Aorta⁷⁹.

Neben lokalen, das primär betroffene Organ schädigenden Einflüssen, wirken sich die in Gang gesetzten Kaskaden des Ischämie-Reperfusionsschadens zusätzlich auch auf entfernte Organe aus und können systemische Komplikationen wie ein SIRS (systemic inflammatory response syndrom) oder Multiorganversagen (MODS, multiple organ dysfunction syndrome) verursachen¹⁴².

Ausgeprägte Hypoxie führt zu einem Abfall essentieller Energielieferanten und verändert konsekutiv die Ionenverteilung, das intrazelluläre Volumen, die Membranfluidität und die Organisation des Zytoskeletts²⁶. Durch die ATP-Depletierung werden energieabhängige Prozesse wie die der Ionen-Pumpen (Natrium-Kalium-Pumpe, Calcium-Pumpe) in ihrer Funktion eingeschränkt⁵⁹. Als Folge der so gestörten Zellvolumenregulation stellen sich bei vermindertem osmotischem Gradienten ein intrazellulärer Wassereinstrom und damit eine Zellschwellung ein²⁷. Weiterhin entsteht ein Ungleichgewicht in der Produktion der vasoaktiv wirksamen Substanzen Stickoxid (vermindert gebildet) und Endothelin (vermehrt gebildet), welches gemeinsam mit dem Zellödem für die Einengung des Gefäßlumens und somit für die gestörte Mikrozirkulation verantwortlich gemacht werden kann¹²⁴. Diese postischämische Perfusionsstörung stellt ein Schlüsselereignis insbesondere des hepatischen Ischämie-

Reperfusionsschadens dar und wird durch die schockspezifische Mikrozirkulationsstörung weiter verstärkt. Hierbei bilden sich einerseits Kapillargebiete aus, die bei hohem zellulären Anteil, wie z.B. O₂-transportierende Erythrozyten, mit einer geringen Flussrate durchblutet werden, und andererseits Areale mit hohem Fluss aber geringen zellulären Anteilen. Dies bedeutet eine weitere Reduktion des Sauerstofftransportes in das ohnehin schon ischämische Gewebe⁹⁷. Trotz wiederhergestellter Blutzufuhr kann es demnach aufgrund des erhöhten kapillären Gefäßwiderstandes zu einer andauernden Unterversorgung des betroffenen Gewebes kommen („No-Reflow“-Phänomen^{9,107,129}).

Weiterhin bewirkt die Ischämie eine vermehrte Bildung proinflammatorischer Genprodukte (Leukozytenadhäsionsmoleküle und Zytokine) und bioaktiver Substanzen wie Thromboxan A₂, das eine Vasokonstriktion bewirkt³⁷. Leukozytenadhäsionsmoleküle (ICAM, VCAM, E-Selektin und P-Selektin) vermitteln die Migration polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten aus der Zirkulation in das entzündete Gewebeareal. Proinflammatorische Zytokine wie TNF- α und Interleukin-1 fördern die Aktivierung weiterer neutrophiler Granulozyten und tragen über die Freisetzung von Sauerstoffradikalen und Proteasen zur Parenchymschädigung bei¹²⁴.

Die Reperfusion wird in zwei Phasen unterteilt. Die frühe Phase der Reperfusion, welche als „Neutrophilen-unabhängige Phase des Schadens“ bezeichnet wird, ist geprägt von der toxischen Wirkung freier Sauerstoffradikale. Hingegen ist die Neutrophilen-abhängige, späte Phase durch die Transmigration von Leukozyten in das Gewebe mit anschließender Entfaltung ihrer schädigenden Wirkung gekennzeichnet³⁸. Beide Phasen sind jedoch nicht als strikt getrennt ablaufend zu betrachten. Vielmehr bedingen und unterhalten sie sich gegenseitig.

Paradoxerweise initiiert die Wiederherstellung des Blutflusses mit der Heranführung von molekularem Sauerstoff während der initialen Reperfusionsphase eine Kaskade von Ereignissen, welche eine zusätzliche Schädigung bewirken. Grund dafür ist u.a. die Reaktion von Hypoxanthin, welches im ischämischen Gewebe beim ATP-Abbau entstanden ist, mit dem Enzym Xanthin-Oxidase in der Gegenwart von Sauerstoff (Abb. 3).

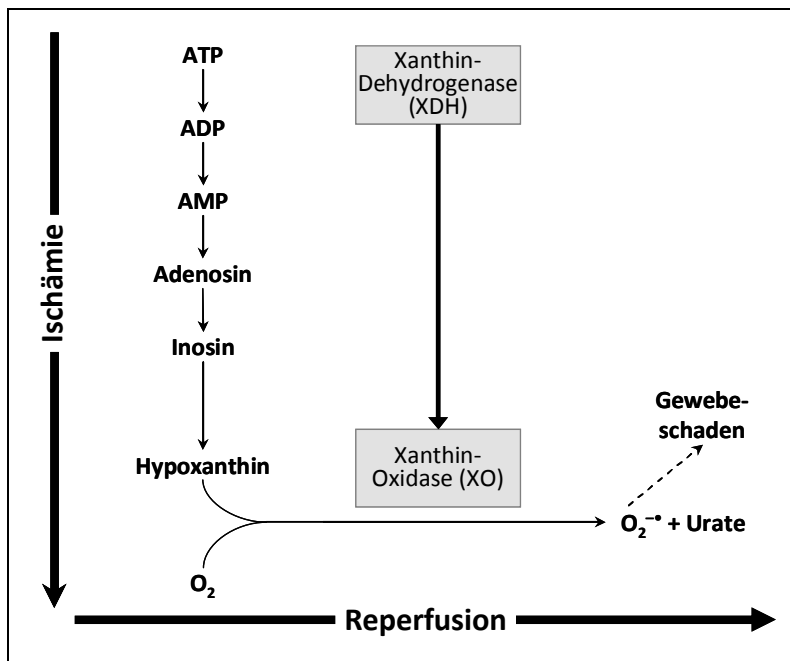


Abb. 3: Schema der Entstehung freier Sauerstoffradikale (O₂^{•-}) in der Ischämie-Reperfusionsequenz durch die Konversion der Xanthin-Dehydrogenase zur Oxidase-Form und die Anhäufung von Hypoxanthin. Erläuterungen im Text. ATP = Adenosintri-phosphat, ADP = Adenosindiphosphat, AMP = Adenosinmonophosphat; Modifiziert nach Maxwell, 1997 [125].

Unter normalen Bedingungen wird Hypoxanthin durch die Xanthin-Dehydrogenase (XDH) zu Xanthin oxidiert. Bei Ischämie jedoch reichern sich durch den Purinabbau hohe Hypoxanthinkonzentrationen im Gewebe an. Gleichzeitig wird die Hypoxanthin-Dehydrogenase zur Hypoxanthin-Oxidase (XO) konvertiert, welcher zur Umsetzung des Hypoxanthins nur ungenügend Sauerstoff als Substrat zur Verfügung steht. Erst mit Einsetzen der Reperfusion wird das exzessiv vorhandene Hypoxanthin dann unter Bildung reaktiver Sauerstoffspezies umgewandelt²⁶.

Diese Sauerstoffradikale (Hyperoxid-Anionen, Wasserstoffperoxide, Hydroxylradikale und Peroxynitrite) entfalten eine zweifache toxische Wirkung. Einerseits schädigen sie direkt zelluläre Membranen durch Lipidperoxidation, andererseits fördern sie über Zytokine und die Genexpression beeinflussende Transkriptionsfaktoren (z.B. Nukleärer Faktor kappaB, NF-κB) die Aktivierung und Chemotaxis von Leukozyten sowie deren Anhaftung an das Endothel³⁷. Korthuis et al. konnten dementsprechend in experimentellen Studien am Skelettmuskel zeigen, dass ischämisches Gewebe bei der Reperfusion mit anoxischem oder hypoxischem Blut einen geringeren Schaden erleidet als bei Zufuhr oxygenierten Blutes¹⁰⁹.

Weiterhin führt das Ungleichgewicht von Hyperoxid-Anionen und Stickstoffoxiden zur Bildung und Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren, wie dem Plättchenaktivierenden Faktor (PAF) und dem Tumornekrosefaktor²⁶. PAF fördert die Generierung freier Sauerstoffspezies durch Leukozyten.

Aus den geschädigten Zellen kommt es zur Freisetzung intrazellulärer Enzyme, deren laborchemische Bestimmung Rückschlüsse auf das betroffene Organ erlaubt. Gegebenenfalls tritt der Zelltod durch Apoptose oder Nekrose ein.

Durch die in der Ischämie eingeleitete und in der Reperfusionphase anhaltende vermehrte Genexpression und Freisetzung chemotaktischer Zytokine und Adhäsionsmoleküle wird die Leukozyten-Endothelzell-Interaktion vermittelt⁴³. Zusätzlich führt auch die Mikrozirkulationsstörung über eine Viskositätsänderung und Strömungsverlangsamung zu einer erhöhten Leukozytenaktivität.

Die Migration polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten aus der Zirkulation zum Ort des inflammatorischen Geschehens wird als ein mehrstufiger Prozess beschrieben (Abb. 4)^{23,24,37}. Zu Beginn der Leukozyten-Endothelzell-Interaktion steht die als „Rollen“ bezeichnete schwache Bindung der Leukozyten auf der postischämischen Endothelzelloberfläche. Für diese initiale Interaktion ist das Adhäsionsmolekül P-Selektin auf der postischämischen Endothelzelle, welches nach Stimulation beispielsweise durch Sauerstoffradikale exprimiert wird, von zentraler Bedeutung. Chemokine bewirken eine Aktivierung von β 2-Integrinen (CD11a, CD11b und CD11c/CD18) auf den Leukozyten, die über entsprechende Endothelrezeptoren (z.B. ICAM-1, -2, -3 oder VCAM-1) für eine feste Anhaftung sorgen⁹. Schließlich findet im letzten Schritt eine Diapedese zahlreicher adhärenter Leukozyten in das Gewebe statt. Diese Transmigration wird durch das Thrombozyten-Endothelzell-Adhäsionsmolekül-1 (PECAM-1) erleichtert.

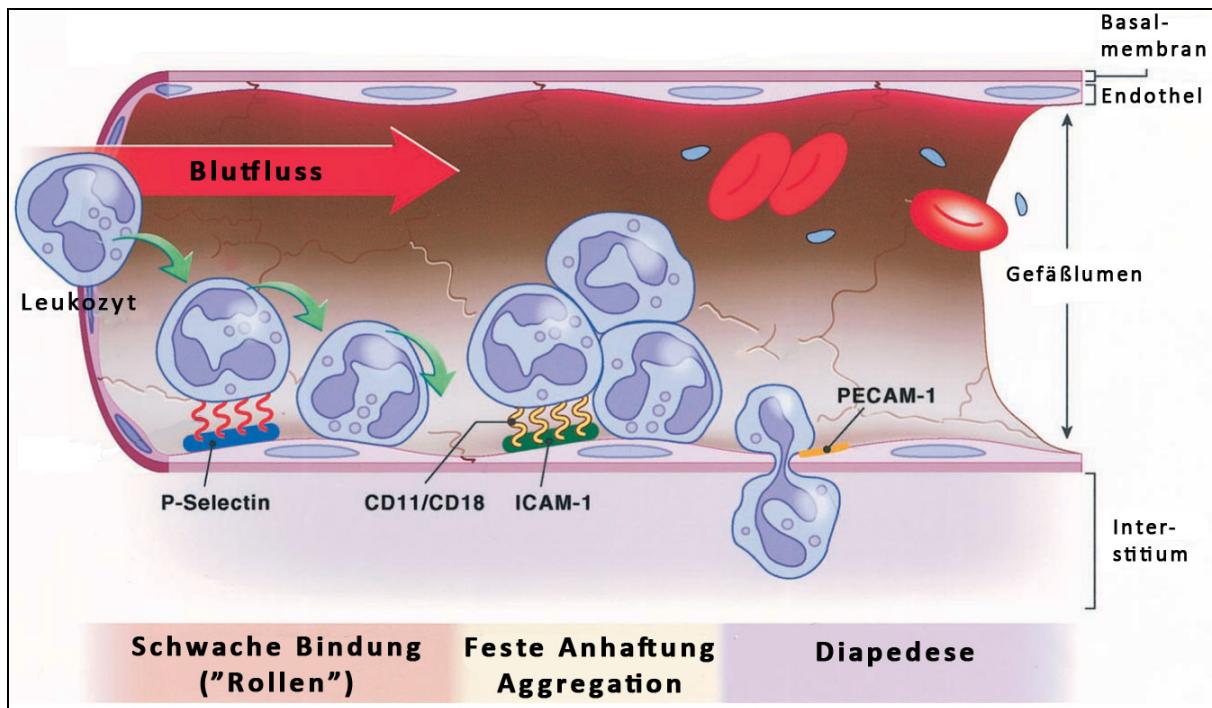


Abb. 4: Schema der Leukozyten-Endothelzellinteraktion. Erläuterungen im Text. CD = Cluster of Differentiation, P-Selectin = platelet selectin, ICAM-1 = interzelluläres Adhäsionsmolekül-1, PECAM-1 = Thrombozyten-Endothelzell-Adhäsionsmolekül-1; modifiziert nach Collard und Gelman, 2001^[37].

Schädigende Wirkung entfalten die neutrophilen Granulozyten über die Sezernierung proteolytischer Enzyme (z.B. Elastase), die Produktion freier Sauerstoffradikale, Lipidperoxidation und möglicherweise durch die Verschlechterung der Mikrozirkulation über Verlegung von Kapillaren^{87,101}. Hieraus resultiert eine gesteigerte Membranpermeabilität mit der Ausbildung von Ödemen, Thrombenbildung und direktem parenchymalem Zelltod³⁷. Die von Leukozyten generierten Hyperoxid-Anionen reagieren zudem mit Stickstoffoxiden (NO) zu hochreaktivem Peroxynitrit, welches potentiell zytotoxisch wirkt^{87,190}.

Während der Reperfusionphase wird auch das Komplementsystems aktiviert und führt durch seine zytotoxische Wirkung zur weiteren Zellschädigung¹². Insbesondere die Anaphylatoxine C5a und C3a entfalten eine stark proinflammatorische Wirkung. Sie stimulieren die Leukozytenaktivierung und die Produktion von TNF- α , IL-1 und IL-6. Zudem beeinträchtigt der Komplex C5b-9 des Komplementsystems durch eine Behinderung der Gefäßrelaxation die Durchblutung im ischämischen Organ und verstärkt die Leukozyten-Endothelzell-Interaktion³⁷.

Ischämie und Reperfusion verursachen nicht nur die Beeinträchtigung lokaler, sondern auch entfernt liegender Organe¹⁴². Beispielsweise beträgt bei viszeraler Ischämie (Leber, Darm und Niere) und Reperfusion im Rahmen einer thorakoabdominalen Aortenaneurysmaoperation die Inzidenz des konsekutiv auftretenden Lungenschadens 20-40%¹⁸⁹. Eine große kausale Bedeutung für diese Schädigung von Organen, die zunächst nicht direkt von der Ischämie betroffen sind, spielen die im hepatischen oder intestinalen Ischämie-Reperfusionsschaden produzierten Zytokine Tumornekrosefaktor- α (TNF- α)³⁹ und Interleukin-1 (IL-1)⁹⁴. Colletti und Kollegen konnten zeigen, dass TNF- α im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden eine vermehrte Expression des interzellulären Adhäsionsmoleküls-1 (ICAM-1) nicht nur in der Leber, sondern auch in der Lunge auslöst und letztlich durch die Transmigration neutrophiler Granulozyten zu deren Schädigung führt³⁸.

Im Falle eines dramatischen Verlaufes der Ischämie-Reperfluationssequenz mündet diese im systemisch inflammatorischen Response-Syndrom (SIRS) bzw. Multiorganversagen (MODS)¹⁴².

1.3.2 Besonderheiten des hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens

Die Leber weist eine duale Blutversorgung auf. Der totale hepatische Blutfluss macht etwa 25% des Herzzeitvolumens aus und setzt sich aus den Zuflüssen des sauerstoffreicheren Blutes der Arteria hepatica und dem sauerstoffärmeren aus der Vena portae zusammen.

Über die Pfortader wird der Leber das teilweise bereits desoxygenierte Blut aus dem gesamten Magen-Darmtrakt, der Gallenblase sowie von Milz und Pankreas zugeführt. Obwohl sie unter physiologischen Bedingungen etwa 2/3 der Lebergesamtdurchblutung ausmacht und 50 % des Sauerstoffbedarfs deckt, ist ihre Regulation unabhängig von hepatischer Kontrolle^{116,133}.

Die Ausübung der hepatozellulären Funktionen wie z.B. Proteinsynthese, Sekretion von Gallenflüssigkeit, Medikamentenmetabolisierung, Volumen- und pH-Homöostase sowie Stofftransport ist zwangsläufig an eine adäquate Perfusion der Leber geknüpft. Es ist bekannt, dass Störungen der sinusoidalen Perfusion mit einer deutlichen Beeinträchtigung der hepatischen Gewebeoxygenierung einhergehen¹⁸³. In Situationen, die den

Sauerstoffverbrauch erhöhen oder das Sauerstoffangebot reduzieren, ist die Leber anfällig für hypoxische Schädigung²⁹.

Im Ischämie-Reperfusionsschaden extrahieren zuvor unterversorgte Gewebeareale gegebenenfalls vermehrt Sauerstoff aus dem Blut und ein im Blutkreislauf nachgeschaltetes Organ ist trotz einsetzender Reperfusion einer fortbestehenden Ischämie ausgesetzt.

Hinzu kommt, dass während der intestinalen Ischämie-Reperfluationssequenz anfallendes Wasserstoffperoxid, aber auch freie Sauerstoffradikale, inflammatorische Mediatoren (wie IL-6) und proinflammatorische Zytokine (wie TNF- α) in die portale und systemische Zirkulation abgegeben werden können^{106,178}. Horie et al. konnten im Rattenmodell bestätigen, dass es im Anschluss an intestinale Ischämie und Reperfusion über die Interaktion mit Adhäsionsmolekülen zur Leukozytenakkumulierung in der Leber kommt⁷⁵.

Die ortständigen Kupfferzellen werden während der Ischämie-Reperfluationssequenz (Abb. 5) aktiviert und produzieren reaktive Sauerstoffradikale sowie verschiedene proinflammatorische Mediatoren wie zum Beispiel TNF- α , IL-1, IL-6 und Prostaglandine^{56,124,138}.

Ferner bewirken TNF- α und IL-1 eine Rekrutierung und Aktivierung CD4-positiver T-Zellen, welche den hämatopoetischen Wachstumsfaktor Granulozyten Makrophagen-Kolonien-stimulierenden Faktor (GM-CSF), Interferon-gamma (INF- γ) und Tumornekrosefaktor- β (TNF- β) produzieren. Diese Zytokine verstärken wiederum die Kupfferzellenaktivierung sowie die Sezernierung von TNF- α und IL-1, und sie begünstigen die Leukozyten-Endothelzell-Interaktion¹²⁴.

Im Prozess der Leukozytenmigration weist die Leber aufgrund ihrer Anatomie einige Besonderheiten auf¹²³. Die Adhäsion findet sowohl in den Sinusoiden als auch in postsinusoidalen Venolen statt. Das Endothel der Sinusoide ist fenestriert und verfügt nicht über eine Basalmembran. Vermitteln in postsinusoidalen Venolen Selektine die initiale als „Rollen“ bezeichnete schwache Bindung, werden bei der Leukozytenakkumulation in den Sinusoiden weder Selektine benötigt noch geht der Migration ein „Rollen“ voraus¹⁰¹. Als weitere Besonderheit wird die eigentliche Diapedese vermutlich nicht durch PECAM-1

mediert³². Khandoga et al. konnten diesbezüglich zeigen, dass das Adhäsionsmolekül JAM-A (junctional adhesion molecule-A) als ein Leukozyten-Endothelrezeptor dient¹⁰¹.

Die Aggregation von Thrombozyten in den Sinusoiden beeinträchtigt zusätzlich den ohnehin schon turbulenten Blutfluss in den teils okkludierten Kapillaren¹³⁸.

Untersuchungen von Khandoga und Biberthaler demonstrierten eine durch Fibrinogen vermittelte Thrombozyten-Endothelzell-Interaktion in Arteriolen, Sinusoiden und Venolen, die neben dem mikrovaskulären auch einen hepatozellulären Schaden auslösen kann^{98,100}.

Der dominante Mechanismus des Zelltodes der Leberzellen, ob Nekrose oder Apoptose, ist im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden nicht eindeutig geklärt^{81,124}. Sowohl der Caspase-abhängige programmierte apoptotische Zelltod wie auch die durch ATP-Depletierung bedingte Nekrose wurden in unterschiedlicher Gewichtung beobachtet^{67,86,104}. Lemasters wies auf die Möglichkeit hin, dass der Prozess des Zelltodes mit einem gemeinsamen Signalweg beginnen könnte, welcher abhängig von anderweitigen Umständen, wie zum Beispiel der Verfügbarkeit von ATP, schlussendlich entweder in Nekrose oder Apoptose mündet, und führte den Begriff „Nekrapoptose“ ein¹¹⁸.

Die durch Aktivierung der Kupffer-Sternzellen und der Hepatozyten in Gang gesetzte Kaskade mit Freisetzung von TNF- α , Interleukinen, Sauerstoffanionen, Stickstoffmonoxid und Kohlenmonoxid und konsekutiv weiterer Bildung proinflammatorischer Mediatoren tritt frühzeitig ein, dass die Leber eine Schlüsselrolle in der Entwicklung der systemischen Entzündungsprozesse einnimmt und als Motor des Multiorganversagens bezeichnet wird^{93,195}. Die systemische Entzündungsreaktion erfasst auch die nicht-ischämiegeschädigten Organe und bedingt eine hohe postoperative Mortalität¹⁴².

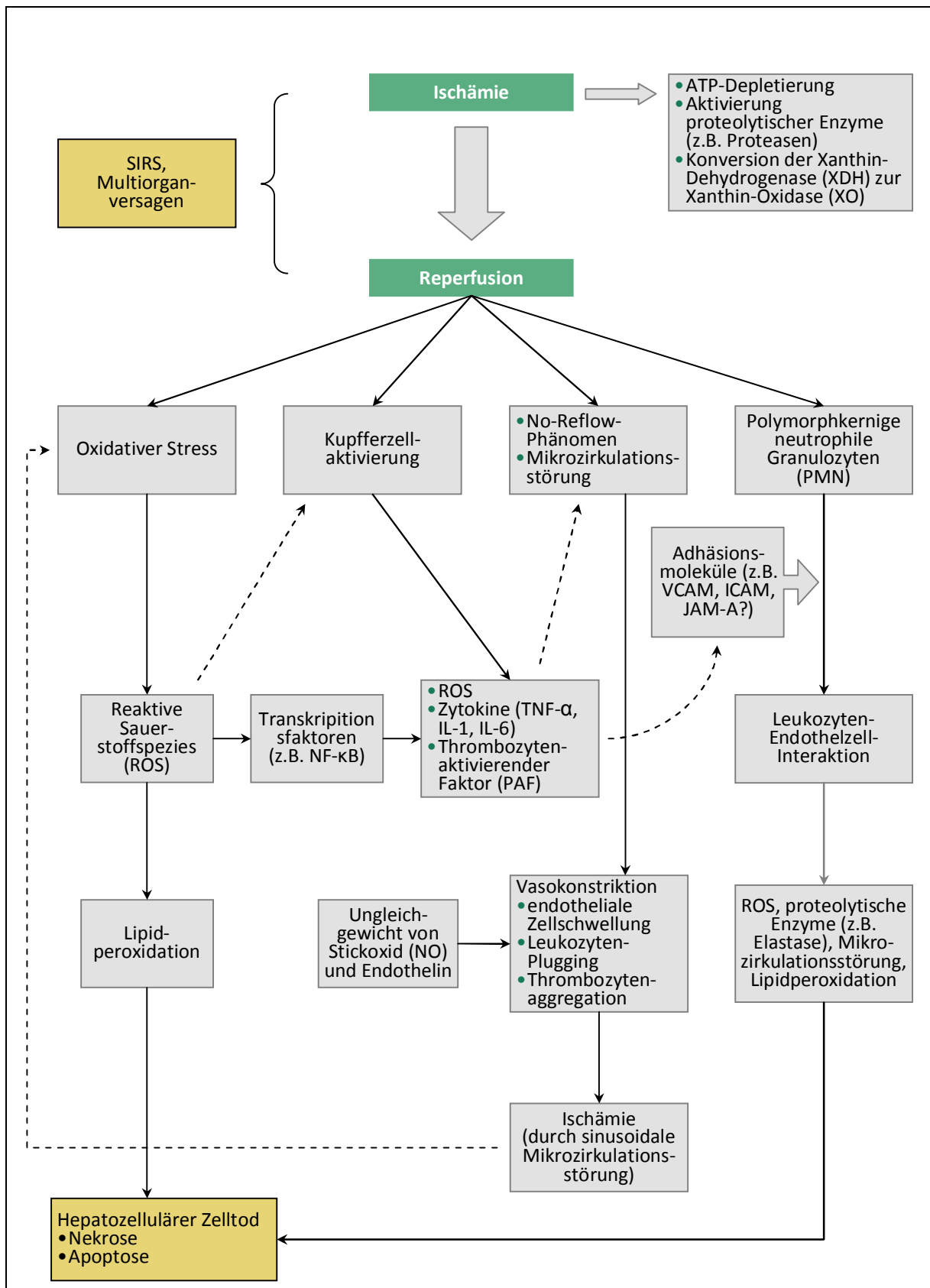


Abb. 5: Hepatische Ischämie-Reperfusionsequenz. Erläuterungen im Text. VCAM = vascular cellular adhesion molecule, ICAM = intercellular adhesion molecule, JAM-A = junctional adhesion molecule-A, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor- α , IL-1 / IL-6 = Interleukin-1, -6; modifiziert nach Dixon et al., 2005 [50].

1.4 Strategien zur Organprotektion während temporärer Aortenokklusion

Die Minimierung des komplexen Ischämie-Reperfusionsschadens, der sich unterhalb der Aortenklammer in der distalen Körperhälfte ereignet, ist nur schwer zu erreichen und Gegenstand zahlreicher Forschungsprojekte auf chirurgischer, pharmakologischer sowie gentherapeutischer Ebene^{162,165}.

Zu den chirurgischen Strategien der Organprotektion zählt die ischämische Präkonditionierung (IPC). Das erstmals von Murry, Jennings und Reimer 1986 im Tierversuch beschriebene Verfahren der ischämischen Präkonditionierung beinhaltet eine adaptative Antwort des Gewebes auf kurze Perioden transienter Ischämie, welche das Ausmaß der Schädigung durch die nachfolgend längere Ischämie und Reperfusion deutlich reduziert^{19,140}. Konkret wurde eine Limitierung der Infarktgröße um 75% relativ zum nicht präkonditionierten Myokard erreicht¹⁴⁰. Ischämische Präkonditionierung kann also definiert werden als eine verbesserte Toleranz gegenüber Ischämie und Reperfusion induziert durch eine vorangegangene Ischämieperiode.

In einer kürzlich veröffentlichten kontrolliert-randomisierten klinischen Studie durch Ali et al. an insgesamt 82 Patienten, welche einer chirurgischen Versorgung eines abdominalen Aortenaneurysmas unterzogen wurden, wurde die ischämische Präkonditionierung durch intermittierendes Abklemmen der Arteriae iliacae communes erfolgreich angewandt. Die postoperative Inzidenz von Herzmuskelschädigung, Myokardinfarkt und renaler Kompromittierung fiel in der IPC-Gruppe signifikant geringer aus⁸.

Schauer et al. konnten durch ischämische Präkonditionierung bei Ratten in vivo eine signifikante Reduktion sowohl der Aspartat-Aminotransferasenaktivität (AST) als auch der Leukozytenadhärenz an Sinusoiden und postsinusoidalen Venulen in der Leber nachweisen¹⁶¹. Die Effektivität der ischämischen Präkonditionierung im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden konnte auch am Menschen beobachtet werden^{35,82,173}.

Neben dieser Triggerung protektiver Mechanismen ist die ischämische Präkonditionierung aber auch mit potentiell schädlichen Aspekten verbunden wie der Auslösung von oxidativem Stress oder der Bildung von Stickstoffmonoxid¹⁶⁵.

Weiterführende Studien mit dem Ziel diese negativen Elemente zu vermeiden ergaben, dass sich eine vergleichbar wirksame Präkonditionierung auch pharmakologisch auslösen lässt¹⁶⁴. Zu diesen präkonditionierenden Substanzen gehören Adenosin Rezeptor-Agonisten und Opioide, welche einen Aktivitätsanstieg der Proteinkinase C bewirken, aber auch mitochondriale K_{ATP} -Kanal-Öffner und Stickstoffmonoxid (NO)^{135,165}.

In einer tierexperimentelle Studie von Ajamieh et al. wurden Ratten einer segmentalen hepatischen Ischämie mit anschließender Reperfusion unterzogen. Sowohl durch ischämische als auch durch pharmakologische Präkonditionierung mit dem Adenosin A1 Rezeptor-Agonisten CCPA (2-chloro-N⁶-cyclopentyladenosin) 24 Stunden vor hepatischer Ischämie und Reperfusion ließ sich eine signifikante Hepatoprotektion erreichen⁵.

Untersuchungen belegten einen kardioprotektiven Effekt nach temporärer Ischämie durch halogenierte, volatile Anästhetika, darunter auch Sevofluran^{30,40,150,179,196,198}. Der Grad der Kardioprotektion zeigte sich mit dem der ischämischen Präkonditionierung, welcher den effektivsten endogenen kardioprotektiven Mechanismus darstellt¹⁷¹, vergleichbar^{46,186}.

Die anästhesieinduzierte Präkonditionierung (APC) ist demnach ein Phänomen, bei dem die kurze Exposition mit volatilen Anästhetika das betroffene Organ gegenüber den potentiell fatalen Auswirkungen einer nachfolgenden Ischämiephase und Reperfusion schützt.

Zwar sind die zugrunde liegenden zellulären und molekularen Mechanismen nicht vollständig verstanden, aber APC und ischämischen Präkonditionierung haben viele intrazelluläre Signalwege gemeinsam^{45,171,187}. An der zellulären Signaltransduktion im Rahmen der anästhesieinduzierten Präkonditionierung sind unter anderem Proteinkinase C (PKC), Protein Tyrosin Kinase (PTK), mitogenaktivierte Proteinkinase (MAPK), Proteinkinase B, Mitochondrien und Ionenkanäle, insbesondere die ATP-abhängigen Kaliumkanäle, beteiligt¹⁷¹. Letztere spielen, nachgewiesen für die Kardioprotektion, eine Schlüsselrolle in der Präkonditionierungssequenz⁴⁴. Die Applikation des unspezifischen K_{ATP} -Kanal-Blockers Glibenclamid vor Exposition des volatilen Anästhetikums unterbindet den kardioprotektiven Effekt^{148,187}.

Analog zur ischämischen und pharmakologischen Präkonditionierung lieferten weiterführende Studien die Erkenntnis, dass auch die Postkonditionierung einen entsprechenden protektiven Effekt bewirkt^{31,169,176}. Hierunter wird die zu Beginn der Reperfusion wiederholt und kurzzeitig durchgeführte Unterbrechung des Blutflusses verstanden²⁰⁰. Ebenso ist die Postkonditionierung auch pharmakologisch durch volatile Anästhetika wie Isofluran oder Sevofluran zu erreichen¹³⁷. Hausenloy und Yellon erkannten, dass die Signaltransduktionswege, die der Prä- und Postkonditionierung zu Grunde liegen, auch Gemeinsamkeiten aufweisen^{70,71}. Entscheidender Unterschied ist jedoch, dass über die Präkonditionierung protektive Signalwege vor Einsetzen der Ischämie eingeleitet werden. Hingegen nimmt das Manöver der Postkonditionierung Einfluss auf die Ereignisse nach der Ischämiephase²⁰⁰. Eingesetzt direkt im Anschluss an das ischämische Ereignis führt die Auslösung der Postkonditionierung zur Öffnung mitochondrialer K_{ATP} -Kanäle und Verhinderung der Öffnung mitochondrialer „permeability transition“-Poren (mPTP)¹⁶⁴. Dies wird als entscheidender Schritt einer zellulären Signalkaskade angesehen, welche den Zelltod verhindert¹³⁷.

Ein bedeutender Angriffspunkt der Konditionierungsverfahren liegt in der Leukozyten-Endothelzellinteraktion während der Reperfusion. Durch pharmakologische Blockierung entsprechender Adhäsionsmoleküle kann der Leukozyten-bedingte Parenchymschaden reduziert werden. Kowalski und Heindl demonstrierten experimentell eine reduzierte Adhäsion polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten unter dem Einfluss von Sevofluran und Isofluran^{72,110}. Die Verhinderung der vermehrte Expression der β_2 -Integrine CD11b/CD18 auf den Leukozyten durch Inhalationsanästhetika könnten die Hemmung der Adhäsion erklären^{72,136}.

Fasst man die Beobachtungen zusammen, so zeigt sich, dass für eine möglicherweise protektiv wirkende Substanz zwei Zeitfenster bestehen, um die Ischämie-Reperfusionsequenz zu beeinflussen: vor Einsetzen der Ischämie (Präkonditionierung) und zu Beginn der Reperfusion (Postkonditionierung). Ein additiver Effekt durch Ergänzung von Prä- und Postkonditionierung konnte jedoch nicht nachgewiesen werden¹⁶⁴. Dennoch scheinen volatile Anästhetika einen größeren kardioprotektiven Effekt zu bewirken, wenn sie

über den gesamten Eingriff hinweg appliziert werden und somit sowohl die prä- als auch die postkonditionierenden Signalwege induzieren^{47,166}.

Eine randomisierte Studie von De Hert et al. zeigte nach koronarchirurgischem Eingriff eine signifikant niedrigere Konzentration des Herzmuskeleiweiß Troponin I und eine verbesserte linksventrikuläre Funktion bei der Patientengruppe, die durchweg Sevofluran im Vergleich zu Propofol als Anästhetikum erhalten hatte⁴⁵.

Im Gegensatz zu den volatilen gibt es für intravenöse Anästhetika nur wenig Hinweise für eine Kardioprotektion nach Ischämie-Reperfusionsschaden. Propofol, ein bekannter Radikalfänger und Inhibitor des Calcium-Einstroms entlang der Plasmamembran, verbessert nicht die postischämische Myokardfunktion¹⁸⁷. Cason et al. belegten in ihrer Studie an Hasen einen kardioprotektiven Effekt für Isofluran, wohingegen dieser durch die alleinige Applikation von Propofol nicht erreicht werden konnte³⁰. Klinisch relevante Konzentrationen von Propofol führen nicht zu einer Aktivierung von K_{ATP} -Kanälen⁹⁵.

Es ist anzunehmen, dass die erwähnten protektiven Effekte nicht auf das Organ Herz beschränkt sind. Es konnte gezeigt werden, dass volatile Anästhetika K_{ATP} -Kanäle aktivieren^{48,96}, welche eine herausragende Bedeutung in der Kardioprotektion einnehmen und eine ähnliche Wirkung gegebenenfalls auch in anderen Organen induzieren könnten. Insbesondere die protektive Wirkung volatiler Anästhetika auf Gefäßendothelien ist belegt. So nehmen sie Einfluss sowohl auf die Leukozyten- als auch die Thrombozyten-Endothelzell-Interaktion^{72,76,110,136}, verbessern den mikrozirkulatorischen Blutfluss und die endotheliale Produktion von Stickstoffmonoxid (NO)^{135,148}. Von diesem Schutz auf Ebene der vaskulären Versorgung profitieren, so lässt sich vermuten, möglicherweise auch andere Organe als das Herz.

In Studien konnte durch Sevofluran-Anwendung ein Schutz der Nieren vor Reperfusionsschäden¹¹⁷ und eine verminderte Freisetzung laborchemischer Marker der renalen Dysfunktion nach koronarer Bypass-Operation nachgewiesen werden⁸⁹.

Auch für den pulmonalen Ischämie-Reperfusionsschaden gibt es Hinweise auf einen protektiven Effekt durch Sevofluran¹¹⁹.

Ob volatile Anästhetika die Fähigkeit besitzen eine Konditionierung der Leber im hepatischen bzw. abdominalen Ischämie-Reperfusionsschaden zu bewirken, ist bisher nicht eindeutig belegt. Untersuchungen von Lorsomradee et al. belegten eine geringere Freisetzung der Transaminasen (AST und ALT) nach koronarer Bypass-Operation bei Anwendung von Sevofluran im Vergleich mit Propofol¹²⁰. Volatile Anästhetika waren ebenfalls in der Lage im Modell der isolierten Rattenleber einen Schutz vor hepatischem Ischämie-Reperfusionsschaden zu bewirken⁷⁷. Eine kürzlich erschienene Studie von Beck-Schimmer et al. zeigte einen protektiven Effekt durch Sevofluran im Vergleich zur Propofol-anästhesierten Kontrollgruppe in der Leberchirurgie am Menschen auf. Die Transaminasenfreisetzung war ebenso signifikant verringert wie das Auftreten von Komplikationen¹⁶.

Laborstudien haben gezeigt, dass Isofluran und Sevofluran die Expression der Hämoxygenase-1 (HO-1) in der Rattenleber induzieren. Das Enzym HO-1, welches als das Hitzeschockprotein 32 (Hsp32) identifiziert wurde, ist in der Lage den Reperfusionsschaden nach systemischer und hepatischer Ischämie zu limitieren¹³⁵. Die Expression von HO-1 ist als protektiver Faktor der Präkonditionierung durch transiente Ischämie und Pharmaka nicht nur in der Leber, sondern auch in anderen Organen nachgewiesen¹³⁵. Isofluran bewirkt in vitro eine vermehrte Expression des Transkriptionsfaktors Hypoxie-induzierter Faktor-1 (HIF-1), welcher durch Genaktivierung große Bedeutung bei der Anpassung der Zelle an eine mangelnde Sauerstoffversorgung besitzt. Zu den protektiven Genen, welche in Hepatozyten exprimiert werden, gehören HO-1, die induzierbare NO-Synthase und der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor^{15,135}.

2 Fragestellung und Hypothese

Die temporäre Okklusion der thorakalen Aorta im Rahmen aortaler Gefäßeingriffe induziert einen abdomino-viszeralen Ischämie-Reperfusionsschaden.

Eine evidenzbasierte Empfehlung bezüglich des zu bevorzugenden Narkoseverfahrens zur Schadensreduktion eines abdomino-viszeralen Ischämie-Reperfusionsschaden existiert nicht. Im klinischen Alltag werden sowohl volatile wie auch total-intravenöse Anästhesieverfahren eingesetzt.

Protektionseffekte auf den myokardialen Ischämie-Reperfusionsschaden durch die Anwendung volatiler Anästhetika wie Sevofluran sind in zahlreichen Studien belegt.

Die Fragestellung der vorliegenden Arbeit lautet, ob sich anhand einer standardisierten, tierexperimentellen Untersuchung ein Unterschied zwischen Sevofluran und Propofol hinsichtlich einer hepatoprotektiven Potenz im abdominalen Ischämie-Reperfusionsschaden, induziert durch thorakales Aortenclamping, nachweisen lässt.

Die Alternativhypothese der vorliegenden Studie kann daher wie folgt formuliert werden:

Die Anwendung von Sevofluran, vor und nach Ischämie, ist der von Propofol bezüglich der Verringerung des hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens im Modell der durch temporäre thorakale Aortenokklusion induzierten schweren abdominalen Ischämie und Reperfusion überlegen.

3 Versuchstiere und Methoden

3.1 Genehmigung

Die in dieser Arbeit durchgeführten Tierversuche fanden im Zeitraum von November 2004 bis August 2005 im Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München statt. Die Genehmigung erfolgte nach Vorlage eines Tierversuchsantrages entsprechend § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung vom 25.05.1998 (BGBl I S. 1105) durch die Landesregierung Oberbayern (AZ-209.1/211-1531-54/04).

3.2 Versuchsmodell

3.2.1 Überblick

Um einen gefäßchirurgischen Eingriff zu simulieren, welcher die temporäre Aortenokklusion beinhaltet, wurde ein standardisiertes, kliniknahes Großtiermodell am Hausschwein angewandt. Die Studie erfolgte randomisiert und verblindet.

Im Anschluss an die chirurgische Präparation und den Aufbau der Messapparaturen unter Fentanyl-Midazolam-Narkose erfolgte zunächst die zufällige Verteilung der Versuchstiere auf eine der beiden Studienmedikationen (Sevofluran versus Propofol). Gleichermaßen wurde per Losentscheid für jedes Versuchstier entschieden, ob es der thorakalen Aortenokklusion und damit dem Modell des Ischämie-Reperfusionsschadens unterzogen wird oder nicht (thorakale Aortenokklusion versus der Kontrollgruppe mit Tieren ohne aortaler Okklusion).

Die Studienmedikation wurde vor, während und bis 120 Minuten nach Beendigung der Ischämiephase appliziert. Bis zum Ende des Versuches nach weiteren 180 Minuten wurde die Narkose dann wieder mit Fentanyl und Midazolam weitergeführt.

Zur Induzierung der Ischämiephase wurde der Ballon des in der Präparationsphase in die Aorta eingebrachten Fogarty Katheters bis zur vollständigen thorakalen Okklusion, dokumentiert durch angiographisch dargestellten Kontrastmittelabbruch, gebläht.

Nach 90 Minuten der Ischämie erfolgte nach Ablassen des Ballons der Beginn der Reperfusionphase. Nach insgesamt 300 Minuten Reperfusion wurde der Versuch beendet (Abb. 6).

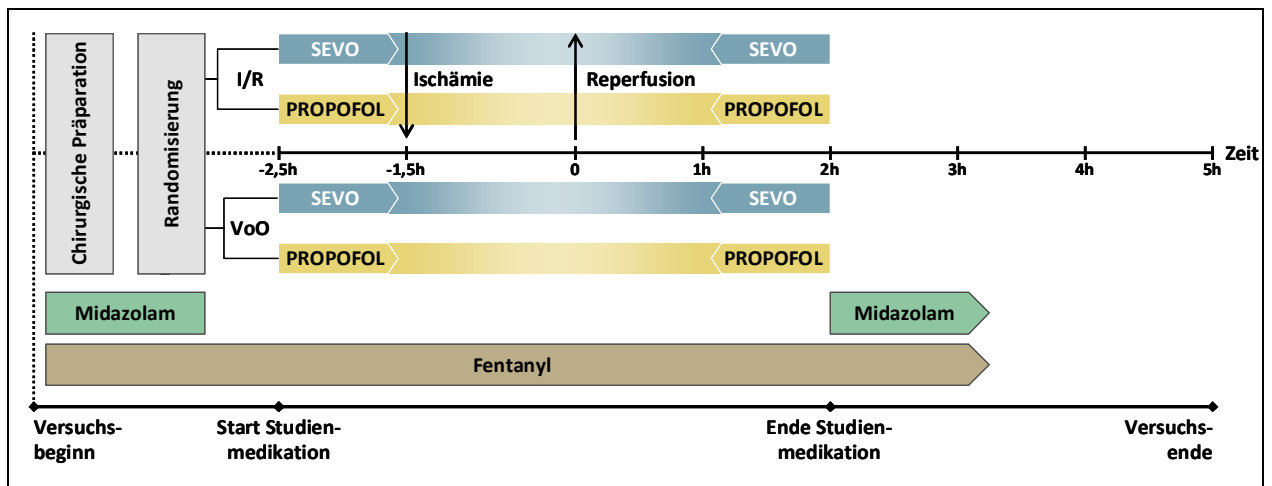


Abb. 6: Schematische Darstellung des Versuchsprotokolls (Sevo = Sevofluran; I/R = Ischämie-Reperfusionsgruppen; VoO = Versuchsgruppen ohne Okklusion)

3.2.2 Versuchstiere

Die Studie umfasste Untersuchungen an insgesamt 28 juvenilen Hausschweinen (Deutsche Landrasse) beiderlei Geschlechtes mit einem Körpergewicht von 29 kg, \pm SD 3 kg. Die Tiere aus einem halothangestetem Stamm wurden über einen Züchter (Lehr- und Versuchsgut der tierärztlichen Fakultät der Universität München, Oberschleißheim) bezogen.

Pflege und artgerechte Haltung erfolgten im Tierstall des Institutes für Chirurgische Forschung der Ludwigs-Maximilians-Universität München durch Fachpersonal gemäß den für Labortiere anerkannten Richtlinien⁷⁸.

Die Schweine wurden in einem Stall mit einer Grundfläche von 2,2 x 1,8 m in Gruppen zu höchstens drei Tieren gehalten. Zudem konnten sie einen Freiluftauslauf von 3,6 x 3,6 m nutzen. Bei konstanter Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit waren die Tiere einem 12-stündigem Tag/Nacht-Rhythmus unterworfen. Es bestand ungehinderter Zugang zu Trinkwasser und bis 12 Stunden vor Versuchsbeginn auch zu einem Standardfutter. Um Stressreaktionen zu minimieren, wurde den Versuchstieren eine Eingewöhnungszeit von mindestens zwei Tagen zugestanden.

Am Ende des Experimentes erfolgte in tiefer Narkose die Euthanasie des Tieres durch intrakardiale Injektion von konzentriertem Kaliumchlorid.

3.2.3 Prämedikation und Narkoseführung

Am Versuchstag wurde ein gesundes und sich im guten Allgemeinzustand präsentierendes Schwein in einen getrennten Stall separiert. Die Analgosedierung erfolgte über die intramuskuläre Applikation von Azaperone (12 mg kg^{-1} , Janssen-Cilag, Neuss) und Midazolam (1 mg kg^{-1} , Ratiopharm, Ulm) in den Nackenmuskel. Über eine am Ohr platzierte Venenverweilkanüle wurde anschließend die Narkose mit Fentanyl ($15 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$, Janssen-Cilag, Neuss), Propofol (2 mg kg^{-1} , AstraZeneca, Wedel) und Atracurium (2 mg kg^{-1} , Hexal, Holzkirchen) eingeleitet.

Nach orotrachealer Intubation (Magill Trachealtubus, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland) erfolgte die volumenkontrollierte, maschinelle Beatmung (Servo 900C, Siemens, Solna, Schweden). Die Beatmungsparameter Atemfrequenz ($23\text{-}27 \text{ min}^{-1}$), Atemzugvolumen ($10\text{-}15 \text{ ml kg}^{-1}$), Verhältnis Inspiration zu Expiration (I:E = 1:1,3) und positiv end-expiratorischer Druck (PEEP, $5 \text{ cm H}_2\text{O}$) wurden nach Analyse arterieller Blutgase (BGA 860, Chiron Diagnostics, Fernwald) und anhand der Kapnometrie (Capnomax Ultima, Datex, Helsinki, Finnland) zu Baselinebedingungen festgelegt und beibehalten. Es wurde ein halboffenes System ohne Rückatmung angewandt und mit einem inspiratorischen Sauerstoffanteil von 1,0 beatmet.

Die Narkose für die chirurgische Präparation wurde nun über Infusionspumpen mit Midazolam ($1,5 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und Fentanyl ($45 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) fortgesetzt. Weiterhin wurden $15 \text{ ml kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ einer Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %, Braun AG, Melsungen) infundiert.

Um ein Auskühlen des Tieres zu vermeiden, wurden eine Heizmatte eingesetzt und sämtliche verwendeten Infusionslösungen im Wasserbad auf $39 \text{ }^\circ\text{C}$ angewärmt.

Zur Kontrolle der elektrischen Herzaktivität erfolgte die Ableitung eines 3-Pol-EKG über subkutan gesetzte Nadelstichelektroden.

3.2.4 Chirurgische Präparation

Zur chirurgischen Präparation wurde das Versuchstier in Rückenlage gebracht (Abb. 7). Um sterile Kautelen während des gesamten Experimentes sicherzustellen, wurden, nach

Abdeckung, die entsprechenden Körperregionen (Hals, Leiste, Thorax und Abdomen) des Tieres mit einem alkoholischen Hautantiseptikum abgewaschen.

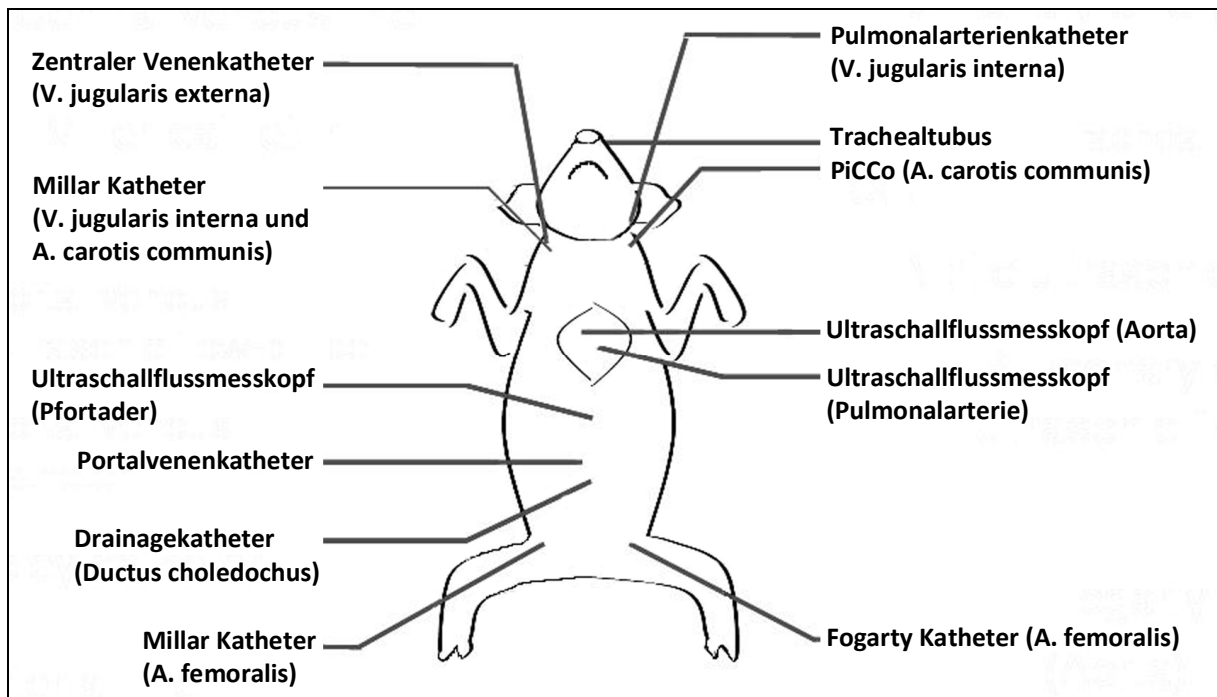


Abb. 7: Überblick über die eingebrachten Messapparaturen während der chirurgischen Präparation. PiCCO = pulse contour cardiac output

3.2.4.1 Katheterimplantation

Nach Präparation von Venen und Arterien wurden alle im Folgenden aufgezählten Katheter in einer modifizierter Technik nach Seldinger angelegt. Hierzu wurde nach der Hautinzision und Eröffnung der Faszienstrukturen in der Regio lateralis colli bzw. Regio femoralis das Gefäß dargestellt. Nach Inzision des peripher ligierten und zentral angeschlungenen Gefäßes erfolgte die Platzierung des Katheters. Anschließend konnte der Katheter fixiert und die Haut durch Tuchklemmen verschlossen werden.

1. Ein mehrlumiger zentralvenöser Katheter (9 French, AVA HF™, Edwards, Irvine, USA) über die Vena jugularis externa rechts für die Zufuhr der Narkotika, die Kochsalzinfusion und die Gewinnung zentralvenöser Blutproben.
2. Ein Microtip Katheter (SPC 350, Millar Instruments, Houston, Texas, USA) über eine 5 F-Schleuse (Arrow-Flex®, Arrow, PA, USA) in die rechte Vena jugularis interna zur Erfassung des zentralen Venendruckes.

3. Ein Pulmonalarterienkatheter (VoLEF, 7 F, PV2047, Pulsion Medical Systems, München) über eine 8,5 F-Schleuse (Arrow-Flex[®], Arrow, PA, USA) über die linke Vena jugularis interna in die rechte Pulmonalarterie.
4. Ein Microtip Katheter (SPC 350, Millar Instruments, Houston, Texas, USA) über eine 5 F-Schleuse (Arrow-Flex[®], Arrow, PA, USA) in die rechte Arteria carotis communis zur Registrierung des arteriellen Blutdruckes und Gewinnung arterieller Blutproben.
5. Ein Thermodilutionskatheter mit endständiger Thermistorsonde (PiCCo, 5 F, PV2015L20, Pulsion Medical Systems, München) über eine 5 F-Schleuse (Arrow-Flex[®], Arrow, PA, USA) in die linkseitige Arteria carotis communis zur Erfassung weiterer hämodynamischer und volumetrischer Parameter sowie zur Messung der Körpertemperatur.
6. Ein Tip-Manometer (SPC 350, Millar Instruments, Houston, Texas, USA) über eine 5 F-Schleuse (Arrow-Flex[®], Arrow, PA, USA) in die rechte Femoralarterie zur Messung des Blutdruckes der unteren Körperhälfte
7. Ein Fogarty Katheter mit endständigem, aufblasbarem Ballon (22 F, 80 cm, Edwards Lifesciences, Irvine, USA) über die linke Arteria femoralis in die Aorta thorakalis zur temporären Okklusion der thorakalen Aorta.

Zur Prüfung der korrekten Lage der eingebrachten Katheter diene ein Röntgengerät (Exposcop 8000, Instrumentarium Imaging Ziehm, Nürnberg).

3.2.4.2 Sternotomie

Als nächstes wurde unter sorgfältiger Blutstillung eine mediane Sternotomie durchgeführt und nach Durchtrennung des parietalen Blattes der Pleura ein Thoraxspreizer eingesetzt. Anschließend wurden Pleura mediastinalis und der Perikardbeutel stumpf eröffnet. Danach erfolgte die Darstellung von Arteria pulmonalis und Aortenbogen. Nun konnten Ultraschallflussmessköpfe (Flow-Probes, 14 oder 16 mm Innendurchmesser, Medi-Stim AS, Grefsen, Norwegen) zur Registrierung des Blutflusses pro Zeit um die Aorta ascendens respektive die Pulmonalarterie gelegt werden.

Um die Perspiratio insensibilis zu reduzieren wurde abschließend der Brustraum durch auf Körpertemperatur angewärmte Tücher abgedeckt.

3.2.4.3 Laparotomie

Für die nun folgende mediane Laparotomie wurde die angesetzte Schnittführung der Thorakotomie entlang der Linea alba bis auf Höhe der Beckenkämme per Hautinzision verlängert. Rektusmuskulatur und Bauchfell wurden längs in Richtung auf das Sternum zu durchtrennt und durch Einsetzen von Bauchdeckenhacken wurde der Blick in das Abdomen frei. Danach erfolgte die Präparation des Ligamentum hepatoduodenale sowie seiner beinhaltenden Strukturen (Ductus choledochus, Arteria hepatica und V. portae hepatis).

In den sich anschließenden Operationsschritten erfolgten die Katheterisierung der Pfortader in modifizierter Seldinger Technik zur Gewinnung portalvenöser Blutproben und das Anlegen eines Ultraschallflussmesskopfes (Flow-Probe, 6 mm Innendurchmesser, Medi-Stim AS, Grefsen, Norwegen) um eben diese zur Registrierung des portalen Blutflusses pro Zeit.

Für die Bestimmung des Galleflusses über die Zeit wurde abschließend die Kanülierung des Ductus choledochus vorgenommen. Dazu wurde nach Inzision eine auf 20 cm gekürzte PVC-Verbindungsleitung (Durchmesser 3,0 x 4,1 mm, Clinico, Bad Hersfeld) in den Hauptgallengang vorgeschoben. Durch manuelle Kompression der Gallenblase wurde verifiziert, dass der Drainageschlauch knapp proximal des Ductus cysticus zu liegen kam.

Der Bauchraum wurde durch die oberflächliche Einlage von vorgewärmten Tüchern abgedeckt.

3.2.5 Versuchsgruppen

Zur Bearbeitung der in Kapitel 2 formulierten Alternativhypothese wurden vier Versuchsgruppen gebildet. In den beiden Interventionsgruppen wurde die Aortenokklusion durchgeführt und entweder Sevofluran oder Propofol als Studienmedikation verabreicht. Die Versuchsgruppen ohne Gefäßverschluss wurden ebenso einer Studienmedikation zugeführt, aber durchliefen nicht den Prozess der Aortenokklusion.

Diese zufällige Einteilung in die Versuchsgruppen erfolgte erst nach Abschluss der chirurgischen Präparation, so dass alle Tiere in der gleichen Technik operiert wurden. Demnach erhielten sie bis zum Start der Studienmedikation auch die gleiche Narkose, bestehend aus Fentanyl und Midazolam.

Die Gabe von Fentanyl ($45 \mu\text{g kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) wurde während des gesamten Versuches in allen Gruppen unverändert beibehalten.

Es handelte sich um eine randomisierte und verblindete Studie mit Aufteilung aller 28 Versuchstiere auf eine der vier im folgenden näher erläuterten Versuchsgruppen.

3.2.5.1 Ischämie-Reperfusionsgruppen (I/R-Gruppen)

Diese Interventionsgruppen umfassten 18 Tiere, die alle dem Schädigungsmodell der thorakalen Aortenokklusion ausgesetzt wurden.

Nach Abschluss der Präparation wurde der Midazolam-Perfusor gestoppt und gemäß Losentscheid die Narkose durch Sevofluran oder Propofol weitergeführt.

Die neun Tiere der Sevofluran-I/R-Gruppe (S-I/R; m/w : 5/4) erhielten eine balancierte Anästhesie durch die Kombination von Fentanyl und Sevofluran 2 Vol. % endtidal (Abbott, Wiesbaden). Das volatile Anästhetikum wurde über einen Narkosemittelverdampfer der Atemluft beigemischt. Die Überwachung erfolgte über einen Beatmungs- und Narkosegasmonitor (Capnomax Ultima, Datex, Helsinki, Finnland).

Bei den neun Tieren der Propofol-I/R-Gruppe (P-I/R; m/w : 5/4) wurde eine total intravenöse Anästhesie, bestehend aus Fentanyl und Propofol, eingesetzt. Die kontinuierliche Propofolzufuhr (Propofol 2 %, $10 \text{ mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$, AstraZeneca, Wedel) erfolgte über eine Infusionspumpe.

Nach 60 Minuten Zufuhr der Studienmedikation erfolgte die aortale Okklusion durch Entfaltung des Ballons mit 20 ml eines Kochsalz-Kontrastmittelgemisches. Während der gesamten Ischämiedauer von 90 Minuten und für insgesamt 120 Minuten der Reperfusion wurde die Applikation der Studienmedikation aufrechterhalten. Bis zum Ende des Versuches nach weiteren 180 Minuten wurde dann wieder auf die ursprüngliche Kombination aus Midazolam und Fentanyl umgeschwenkt.

Der komplette Verschluss der Aorta knapp unterhalb des Abganges der Arteria subclavia sinistra wurde in dreifacher Weise verifiziert: erstens angiographisch als Kontrastmittelabbruch in der Aorta auf Höhe des entfalteten Ballons (Abb. 8), zweitens durch

den fehlenden Nachweis eines portalen Blutflusses über den Ultraschallflussmesskopf und drittens durch das Verschwinden des arteriellen Blutdruckes in der Arteria femoralis, welcher die Druckverhältnisse der distalen Körperhälfte repräsentiert.

Um das Risiko einer Thrombenbildung zu minimieren, wurden 60 Minuten nach Beginn der Studienmedikation 2.500 IE Heparin (Heparin-Natrium, Ratiopharm, Ulm) intravenös verabreicht.

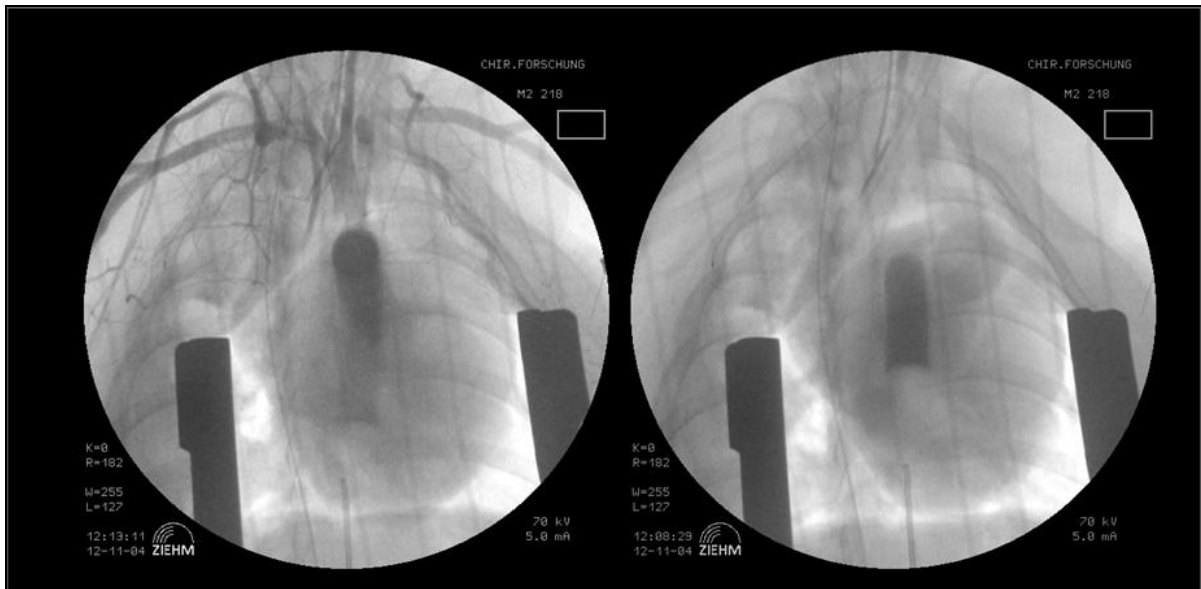


Abb. 8: Angiographische Verifizierung der vollständigen Ballonokklusion der thorakalen Aorta

3.2.5.2 Versuchstiere ohne aortale Okklusion (VoO-Gruppen)

Um die Effekte über die Zeit zu erfassen, wurden zehn weitere Schweine entsprechend der Versuchsanordnung präpariert, durchliefen aber nicht den Vorgang der aortalen Okklusion.

Diese Versuchstiere waren also lediglich dem chirurgischen Trauma der Präparation ausgesetzt.

Entsprechend der gewählten Studienmedikation erfolgte hierbei eine Unterteilung in fünf Tiere, die Sevofluran (S-VoO-Gruppe; m/w : 4/1) und fünf Tiere, welche Propofol (P-VoO-Gruppe; m/w : 4/1) erhielten.

3.2.6 Randomisierung und Verblindung

Die Randomisierung der Versuchstiere erfolgte per Losentscheid durch vorgefertigte und verschlossene Briefumschläge.

Dem Studienleiter, welcher für Narkose und Interventionsmaßnahmen gemäß der zielwertorientierten Therapie (siehe Kapitel 3.3) verantwortlich war, hatte zu keinem Zeitpunkt des Experimentes Kenntnis darüber, welche Studienmedikation appliziert wurde. Um dies sicherzustellen wurden entsprechende elektronische Anzeigen und Gerätschaften mit einem Sichtschutz versehen.

Der Studienleiter war in den Prozess der Probenverarbeitung und Datenerhebung nicht involviert.

3.3 Zielwert-orientierte Therapie und Interventionen

Alle Tiere der Ischämie-Reperfusionen wurden während der Reperfusionenphase, unabhängig ihrer Versuchsgruppenzugehörigkeit, nach einem eigens entwickelten zielwertorientierten Protokoll behandelt (Abb. 9).

Ziel war es, zu jedem Zeitpunkt in der Reperfusion eine stabile Kreislaufsituation aufrechtzuerhalten, die eine adäquate Blutversorgung aller Organe gewährleisten konnte. Insbesondere auch einen ausreichenden Perfusionsdruck der Leber.

Unmittelbar vor Einsetzen der Reperfusionenphase erhielt jedes Tier standardisiert 100 ml Natriumhydrogencarbonat 8,4 % (Braun AG, Melsungen) zur Pufferung sowie 0,1 mg Noradrenalin.

Für den Entscheid zu weiteren Interventionsmaßnahmen wurden folgende Parameter durch das Protokoll berücksichtigt: der mittlere arterielle Blutdruck (MAP), der pulmonalkapillare Verschlussdruck (PCWP, wedge-Druck), die Herzminutenvolumen (CO) sowie die Basenabweichung (base excess, BE).

Der MAP wurde dabei als Maß für den Perfusionsdruck der Organe im arteriellen Strombett interpretiert und durfte einen Wert von 50 mmHg nicht unterschreiten.

Zur Abschätzung der linksventrikulären Vorlast wurde der wedge-Druck (PCWP) herangezogen, der stets über 5 mmHg gehalten wurde. Bei Abfall unter 5 mmHg erfolgte zunächst die Applikation von Volumenboli zu je 50 ml mit Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %, Braun AG, Melsungen) und kolloidaler Hydroxyethylstärke 6 % (Voluven[®] 130/0,4; Fresenius Kabi, Bad Homburg) im Verhältnis 2:1.

Fiel der MAP auf Werte unter 50 mmHg und konnte durch wiederholte Volumenboli keine weitere Steigerung erreicht werden, erfolgte die kontinuierliche Infusion von Noradrenalin als Vasopressor (Arterenol[®], Norepinephrinhydrochlorid, Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt). Führt auch diese Maßnahme nicht zur Einhaltung der Grenzwerte und wurde ein Absinken der kardialen Auswurfleistung unter 20 % des Ausgangswertes gemessen, erfolgte zusätzlich die intravenöse Infusion von Adrenalin (Suprarenin[®], Epinephrinhydrochlorid, Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt).

Die Steigerung der Katecholamine erfolgte bedarfsadaptiert bis zu einer Maximaldosis von 6 mg h⁻¹.

Weiterhin wurde der Basenüberschuss in einem Bereich von -5 und +5 mmol/l konstant gehalten. Die Pufferung erfolgte gegebenenfalls mittels Natriumhydrogenkarbonat (8,4 %, Braun AG, Melsungen). Der Menge wurde gezielt nach den Werten der arteriellen Blutgasanalyse mit Hilfe folgender Formel berechnet: $\frac{1}{3} \times \text{Körpergewicht (kg)} \times \text{BE}$.

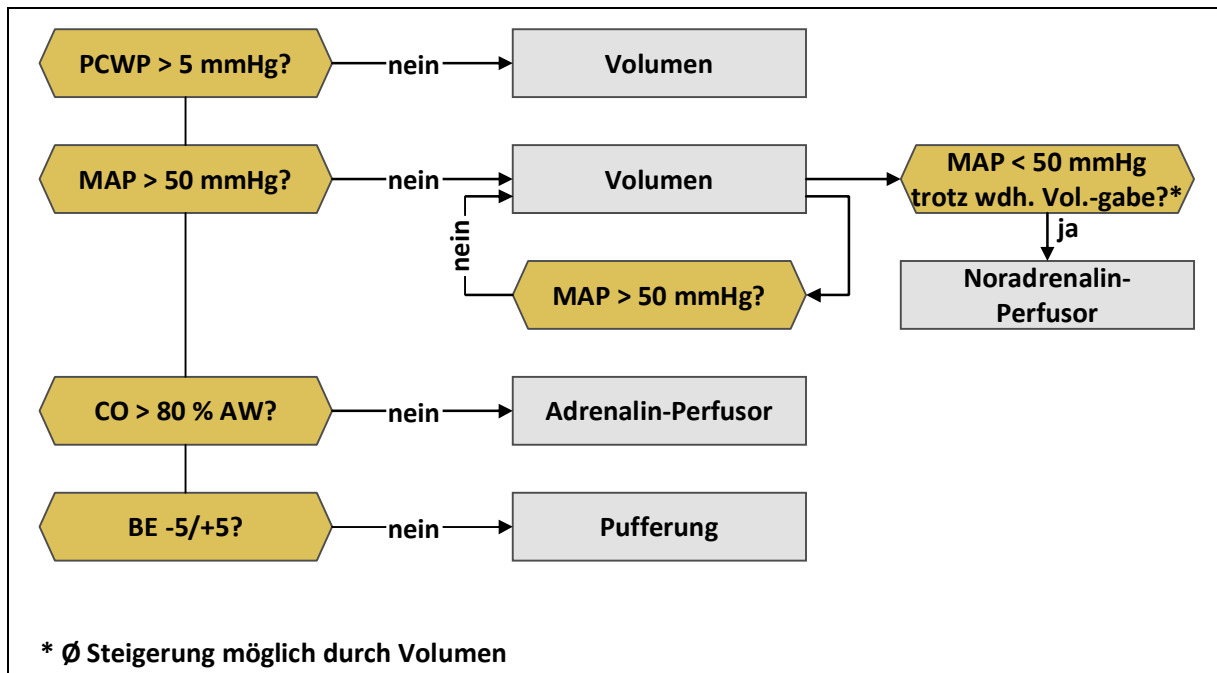


Abb. 9: Protokoll der zielwert-orientierten Interventionen (PCWP = pulmonal-kapillärer Verschlussdruck; MAP = mittlerer aortaler Blutdruck; CO = Herzauswurfleistung; AW = Ausgangswert; BE = Basenabweichung)

3.4 Messzeitpunkte und Probengewinnung

Die Erhebung der Daten erfolgte während des Versuches zu insgesamt neun definierten Messzeitpunkten (MZP) T1 bis T9 (Abb. 10).

Nach Abschluss der chirurgischen Präparation wurde die Studienmedikation gestartet und nach 60-minütiger Applikation die Ausgangswerte (T1) erhoben. Die sich anschließende Phase der Ischämie wurde durch Datenregistrierung 15 Minuten (T2) und 75 Minuten (T3) nach Aortenverschluss erfasst. Mit Aufhebung der Okklusion nach insgesamt 90 Minuten begann die Reperfusionphase, in deren Verlauf die Messzeitpunkte T4 (5 Minuten), T5 (60 Minuten), T6 (120 Minuten), T7 (180 Minuten), T8 (240 Minuten) und T9 (300 Minuten) gelegt wurden.

Unmittelbar nach Abschluss der Messung T6, also zwei Stunden nach Reperfusionbeginn, wurde die Zufuhr der Studienmedikation beendet und erneut auf die Kombination aus Fentanyl und Midazolam umgeschwenkt.

In den beiden Versuchsgruppen ohne aortale Okklusion wurde auf die Datenerhebung zu den äquivalenten Zeitpunkten T2 (nach 15 Minuten Ischämie), T4 (nach 5 Minuten Reperfusion) und T8 (nach 240 Minuten Reperfusion) verzichtet.

Mit Hilfe der erhobenen Parameter wurden die kardiopulmonale Situation, das Blutbild, der Flüssigkeits- und Elektrolytstatus, die Urin- und Galleausscheidung, der Säure-Basenhaushalt, sowie der Katecholaminverbrauch registriert. Ein Messzeitpunkt umfasste zudem die Entnahme von Blutproben für laboranalytische Bestimmungen und die Gewinnung von Gewebematerial.

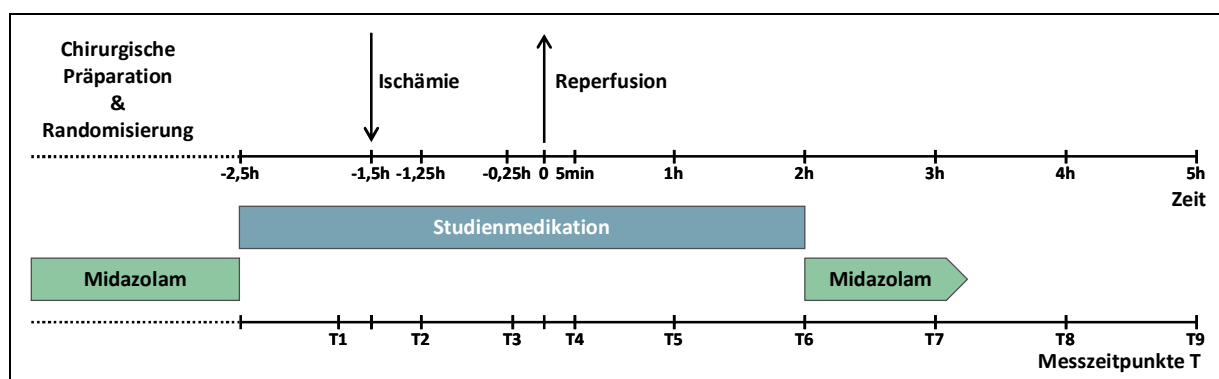


Abb. 10: Veranschaulichung der Messzeitpunkte in ihrem zeitlichen Bezug zum Versuchsablauf

3.4.1 Blutentnahme und Verarbeitung

Die Blutentnahmen erfolgten simultan in heparinisierte Einmalspritzen aus arteriellen, zentralvenösen, gemischtvenösen und portalen Zugängen.

Die Erstellung von Blutgasanalysen erfolgte im Blood Gas Analyser (BGA 860, Chiron Diagnostics, Fernwald). Die Blutbilder wurden mit Hilfe eines Coulter Counters® (Coulter Counter T 540, Fa. Coulter, Krefeld) angefertigt.

Zusätzlich wurde zur Serumgewinnung Blut aus dem zentralvenösen Katheter entnommen. Die Proben wurden zunächst zentrifugiert und das extrahierte Serum bei -80 °C bis zur Analyse gelagert. Später erfolgte die laboranalytische Bestimmung von Enzymaktivitäten und Proteinkonzentrationen entsprechend den Vorgaben der deutschen Gesellschaft für klinische Chemie mittels Routineanalysegeräten spektrophotometrisch im Institut für Klinische Chemie, Klinikum Großhadern, München.

Um den Verdünnungseffekt der Infusionstherapie auf die entnommenen Proben zu berücksichtigen, erfolgte bei den gemessene Enzymaktivitäten eine korrigierende Normierung um den Dilutionsfaktor der Gesamteiweißkonzentration der jeweiligen Probe.

3.4.2 Gewebeentnahme und Verarbeitung

Die Entnahme von Lebergewebe erfolgte am Ende des Versuches zum Zeitpunkt T9. Aus dem Lobus caudatus wurde ein etwa 5 x 5 cm messendes Stück entnommen. Entsprechend der beabsichtigten Untersuchungen wurde dieses per Scherenschnitt portioniert.

Für die Anfertigung histologischer Schnitte wurde Lebergewebe in Paraformaldehyd (4 %, pH 7,4) fixiert. Nach Einbettung in Paraffin wurden mittels Schlittenmikrotom Dünnschnitte angefertigt.

Einige Stücke Lebergewebe wurden im Anschluss an die Entnahme in flüssigem Stickstoff gefroren und bis zur Analyse bei -80 °C gelagert.

Eine weitere Leberportion wurde zur Bestimmung des Verhältnisses von Leberfeucht- zu Lebertrockengewicht entnommen.

3.5 Allgemeine Messparameter

3.5.1 Hämodynamik

Dem Monitoring der elektrischen Herzaktivität (Herzfrequenz, HF) dienten subkutan platzierte EKG-Stichelektroden.

Zur Online-Aufzeichnung von mittlerem aortalem (MAP) und zentralvenösem Blutdruck (ZVD) mit einer Abtastrate von 250 Hz (Dasy Lab; Measx, Mönchengladbach) wurden geeichte Katheter mit Drucksensor (SPC 350, Millar Instruments, Houston, Texas, USA) verwendet.

Durch Anbringen der kalibrierten Ultraschall-Flowprobes (CardioMed medical volume flowmeter, CM 1008, Medi-Stim AS, Oslo, Norwegen) um Aorta ascendens (Herzzeitvolumen,

CO), Pulmonalarterie und Portalvene (Fluss_{portal}) konnte der Fluss in den jeweiligen Gefäßen als Volumen pro Zeit kontinuierlich gemessen werden.

Durch zu Hilfenahme gebräuchlicher Standardformeln konnten folgende Parameter errechnet werden:

Der Herzindex HI ($\text{l m}^{-2} \text{ min}^{-1}$) = Herzzeitvolumen (l/min) x Körperoberfläche (m^2)⁻¹

Der systemische Gefäßwiderstand SVR ($\text{Dyn s cm}^{-5} \text{ m}^{-2}$) = (MAP – ZVD) / HZV

Durch Quotientenbildung ließ sich das Verhältnis von portalvenösem Blutfluss zum Herzindex bestimmen: Fluss_{portal} (l min^{-1}) / HI ($\text{l m}^{-2} \text{ min}^{-1}$)

Mit Hilfe des eingebrachten Swan-Ganz-Katheters in der Pulmonalarterie und des Tip-Manometers in der Arteria femoralis konnten pulmonalarterieller Druck (PAP) sowie pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP), respektive der femorale Blutdruck ermittelt werden.

3.5.2 Sauerstofftransport

Die Überwachung der Beatmungsqualität erfolgte über das Beatmungsgerät und die Kapnometrie (Capnomax Ultima, Datex, Helsinki, Finnland) durch folgende Parameter: Atemfrequenz (AF), Atemminutenvolumen (AMV), Atemzugvolumen (AZV), Spitzendruck (Pmax), positiv end-expiratorischer Druck (PEEP), in- und expiratorische Sauerstoffkonzentration (FiO₂ bzw. etO₂) sowie endtidale Kohlendioxid- (etCO₂) und Sevoflurankonzentration.

Zusätzlich wurde die Auswertung von arteriellen, gemischtvenösen und portalvenösen Blutgasanalysen zur Beurteilung von pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, BE, SO₂ und PO₂ herangezogen.

Durch Anwendung der im nachfolgenden genannten Formeln ließen sich an weiteren Größen Sauerstoffangebot (DO₂), Sauerstoffverbrauch (VO₂) und die Sauerstoffextraktion (O₂-ER) berechnen.

Hierzu wurden zuvor der arterielle (CaO₂), der venöse (CvO₂) und der portalvenöse Sauerstoffgehalt (CpvO₂) des Blutes berechnet:

$$\text{CaO}_2 \text{ (ml O}_2\text{/100ml)} = 1,34 \times [\text{Hb (g/l)}] \times \text{SaO}_2 \text{ (\%)} \times 100^{-1} + 0,003 \times \text{PaO}_2 \text{ (mmHg)}$$

$$\text{CvO}_2 \text{ (ml O}_2\text{/100ml)} = 1,34 \times [\text{Hb (g/l)}] \times \text{SvO}_2 \text{ (\%)} \times 100^{-1} + 0,003 \times \text{PvO}_2 \text{ (mmHg)}$$

$$\text{CpvO}_2 \text{ (ml O}_2\text{/100ml)} = 1,34 \times [\text{Hb (g/l)}] \times \text{SpvO}_2 \text{ (\%)} \times 100^{-1} + 0,003 \times \text{PpvO}_2 \text{ (mmHg)}$$

1,34 = O₂-Bindungskapazität in ml pro Gramm Hb; Hb: Hämoglobinkonzentration; SaO₂: arterielle O₂-Sättigung; SvO₂: venöse O₂-Sättigung; SpvO₂: portalvenöse O₂-Sättigung; PaO₂: arterieller O₂-Partialdruck; PvO₂: venöser O₂-Partialdruck; PpvO₂: portalvenöser O₂-Partialdruck

Um die Menge des zur Verfügung stehenden Sauerstoffes zu quantifizieren, wurde zunächst das Sauerstoffangebot (DO₂) bestimmt. Zum einen als DO_{2total} auf den Gesamtorganismus bezogen und zum anderen auf die mesenteriale Strombahn beschränkt als DO_{2mes}:

$$\text{DO}_{2\text{total}} \text{ (ml x min}^{-1}\text{)} = 10 \times \text{CaO}_2 \text{ (ml/100ml)} \times \text{HZV (l/min)}$$

$$\text{DO}_{2\text{mes}} \text{ (ml x min}^{-1}\text{)} = 10 \times \text{CaO}_2 \text{ (ml/100ml)} \times \text{Fluss}_{\text{portal}} \text{ (l/min)}$$

CaO₂: arterieller O₂-Gehalt; HZV: Herzzeitvolumen; Fluss_{portal}: portaler Blutfluss

Analog ließ sich das Sauerstoffangebot an die Leber über die Pfortader (DO_{2port}) berechnen:

$$\text{DO}_{2\text{port}} \text{ (ml x min}^{-1}\text{)} = 10 \times \text{CpvO}_2 \text{ (ml/100ml)} \times \text{Fluss}_{\text{portal}} \text{ (l/min)}$$

Somit gelten für die Menge des ausgeschöpften Sauerstoffs (VO₂) folgende Formeln:

$$\text{VO}_{2\text{total}} \text{ (ml x min}^{-1}\text{)} = 10 \times [\text{CaO}_2 \text{ (ml/100ml)} - \text{CvO}_2 \text{ (ml/100ml)}] \times \text{HZV (l/min)}$$

$$\text{VO}_{2\text{mes}} \text{ (ml x min}^{-1}\text{)} = 10 \times [\text{CaO}_2 \text{ (ml/100ml)} - \text{CpvO}_2 \text{ (ml/100ml)}] \times \text{Fluss}_{\text{portal}} \text{ (l/min)}$$

CaO₂: arterieller O₂-Gehalt; CvO₂: venöser O₂-Gehalt; CpvO₂: portalvenöser O₂-Gehalt; HZV: Herzzeitvolumen; Fluss_{portal}: portaler Blutfluss

Die Sauerstoffextraktion ergibt sich als Quotient aus Sauerstoffverbrauch und -angebot:

$$\text{O}_2\text{-ER}_{\text{total}} \text{ (\%)} = [\text{VO}_{2\text{total}} / \text{DO}_{2\text{total}}] \times 100$$

$$\text{O}_2\text{-ER}_{\text{mes}} \text{ (\%)} = [\text{VO}_{2\text{mes}} / \text{DO}_{2\text{mes}}] \times 100$$

3.5.3 Hämoglobinwert und Leukozyten

Hämoglobinwert [g liter^{-1}] sowie Leukozytenzellzahl [10^9 liter^{-1}] wurden zu den Messzeitpunkten T1, T3, T4, T5, T6, T7 und T9 aus zentralvenösen Blutproben bestimmt (Coulter Counter T540, Fa. Coulter, Krefeld).

3.5.4 Laktatkonzentration und Aktivität des Enzyms LDH

Zur Quantifizierung des Ausmaßes des gesetzten Ischämie-Reperfusionsschadens wurden die Laktatkonzentration und die Aktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) bestimmt.

Die Laktatmessung in [mmol l^{-1}] erfolgte zu allen neun Messzeitpunkten durch ein automatisiertes Blutgasanalysegerät (BGA 860, Chiron Diagnostics, Fernwald).

Die Aktivität in [U/l] des Enzyms Laktatdehydrogenase wurde in zentralvenösen Blutproben, entnommen zu den Messzeitpunkten T1, T3, T4, T6 und T9, gemessen.

3.5.5 Apoptosemarker

Zur Untersuchung apoptotischer Vorgänge in der Leber dienten zum einen die morphologische Anfärbung mittels TUNEL-Färbung sowie die Aktivität des Apoptose-Induktors Caspase-3.

3.5.5.1 TUNEL-Färbung

Die Anwendung des TUNEL-Assay (Terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick-end-labeling) erfolgte zur Identifizierung apoptotischer Zellen durch Anfärbung.

Nach Entparaffinierung wurden die Leberschnitte ($6 \mu\text{m}$) zunächst mit Trispuffer (Trizma[®] base, Sigma, München) versetzt und mit Pronase K (Roche, Mannheim) inkubiert. Nach einem Waschvorgang mit PBS-Tween wurden die Schnitte auf Cover-Plates aufgezogen und anschließend gemäß den Anweisungen des Herstellers mittels TUNEL-Methode (In Situ Cell Death Detection Kit, Roche, Mannheim) gefärbt.

Die TUNEL-positiven Zellen wurden in 15 Gesichtsfeldern bei 40-facher Vergrößerung durch eine verblindete Person ausgezählt.

3.5.5.2 Aktivität der Caspase-3

Zur Bestimmung der Aktivität des spezifischen Apoptose-Induktors Caspase-3 wurden Proben des entnommenen Lebergewebes zunächst mit Lysepuffer (1 ml, pH 7,5; HEPES 25 mMol, MgCl₂ 5 mMol, EGTA 1 mMol, DTT 1 mMol) versetzt und in den Homogenisator gegeben. Das Homogenisat wurde anschließend für 5 Minuten in einer Kühlzentrifuge bei 13500 U/min abzentrifugiert und der von Zelltrümmern befreite Überstand abgenommen. Die Proteinbestimmung wurde mittels der Bradford-Methode unter Verwendung einer Standard Bradfordlösung durchgeführt²¹. Den zu untersuchenden Proben wurden nun 100 µl des spezifischen Substrates Ac-Asp-Glu-Val-Asp-AMC (Ac-DEVD-AMC, Alexis Biochemicals, Lausen, Schweiz) zugegeben und die Aktivität der Caspase-3 über die Umsetzung gemessen. Durch schrittweise Verdünnung von Coumarin wurde eine Standardkurve erstellt.

Die Aktivität der Caspase-3 wurde photometrisch (Anregung 390 nm, Emission 460 nm; FLUOstar®, Offenburg) bestimmt. Die Messwerte sind als Aktivität in [nmol/20min/50µg Protein] angegeben.

3.6 Zielparameter

Für die genauere Betrachtung der Leber im Rahmen des gewählten Modells sollten die Zielparameter den Leberstatus möglichst umfassend abdecken. Hierzu wurde die Leber hinsichtlich ihrer Funktion (Gallefluß), der zellulären Integrität (Enzymaktivitäten AST, ALT, GLDH) und des Gewebeschadens (Histologie, Wet/Dry-Ratio, Granulozyteninfiltration) untersucht.

3.6.1 Gallefluss

Für die Bestimmung des Galleflusses wurde die über den kanülierten Ductus biliaris abgeleitete Galle in einem skalierten Messzylinder aufgefangen und zu den Messzeitpunkten

T1, T3, T5, T6, T7, T8 und T9 abgelesen. Die Ergebnisse wurden in Prozent des Ausgangswertes zum Zeitpunkt T1 angegeben (T1 = 100 %).

3.6.2 Aktivität der Leberenzyme AST, ALT und GLDH

Zur Detektion eines hepatischen Zellschadens wurde die Aktivität der Enzyme Aspartat-Aminotransferase (AST/GOT), Alanin-Aminotransferase (ALT/GPT) und Glutamatdehydrogenase (GLDH) aus zentralvenösen Serumproben in [U/l] bestimmt. Die Blutentnahmen erfolgten zu den Zeitpunkten T1, T3, T4, T6 und T9.

3.6.3 Histopathologische Untersuchung eines Leberschnittes

Zur histopathologischen Beurteilung wurde eine konventionelle Färbung mit Hämatoxylin-Eosin angefertigt. Dazu wurden 4 µm dicke Gewebeschnitte mit Hämalaun (Fa. Merck, Darmstadt) und Eosin (2 % konzentriert, Fa. Chroma) gefärbt.

Dem Institut für Pathologie der Ludwig-Maximilians-Universität München wurden mit einem Zahlencode versehene Schnitte übergeben, wo die Auswertung durch eine von der Studie unabhängigen Pathologin erfolgte.

Zur Beurteilung wurde eine histologische Gradeinteilung verwendet, die jedem Schnitt einen der folgenden Punktwerte zuordnete:

0 = normal	1 = Einzelzellnekrosen
2 = Gruppennekrosen	3 = konfluierende Nekrosen

3.6.4 Wet/Dry-Ratio

Zur Bestimmung des Verhältnisses von Feucht- zu Lebertrockengewicht (Wet/Dry-Ratio) als Maß für die Ausbildung eines interstitiellen Ödems wurde eine Leberportion am Ende des Versuches entnommen und in feuchtem Zustand gewogen. Nach 21 Tagen Lagerung bei 80 °C in einem Trockenschrank erfolgte die erneute Wägung mit Bildung des Quotienten.

3.6.5 Granulozyteninfiltration

Ebenfalls an einem Gewebeschnitt erfolgte die Auszählung polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten (PMN). Die Färbung wurde mit Hilfe eines Esterase-Kit (Sigma, München) durchgeführt. Nach Entparaffinierung wurden die Schnitte mit destilliertem Wasser gespült und anschließend auf 37 °C gewärmter ASDCL-Lösung (Naphtol AS-D Chloracetat) für 30 Minuten inkubiert. Es folgten eine erneute Spülung in Aqua dest., das kurze Eintauchen in Hämalan und eine 3-minütige, fließende Wässerung. Schließlich konnte nach weiterer Spülung die Eindeckelung mit Ultramount (Dako Deutschland GmbH, Hamburg) vorgenommen werden.

Zur Auszählung wurden die Objektträger mit einem Zahlencode versehen und bei 40-facher Vergrößerung jeweils 15 Gesichtsfelder beurteilt.

3.7 Statistik

Die statistische Analyse der Daten erfolgte elektronisch gestützt mit Hilfe des Statistik Programms SigmaStat® (Systat Software, Richmond, USA).

Zur Überprüfung der vorliegenden Verteilung der Daten wurde ein Kolmogorow-Smirnow Test angewandt.

Für den Vergleich zweier Gruppen an einem isolierten Messzeitpunkt schloss sich bei Normalverteilung ein t-Test an. Bei nicht normal-verteilten Datensätzen wurde ein Mann-Whitney-U-Test verwendet.

Sollten an einem Messzeitpunkt alle vier Versuchsgruppen analysiert werden, wurde bei Vorliegen von Normalverteilung mittels einfaktorier ANOVA und bei nicht normal-verteilten Daten mittels einer 1-Wege ANOVA on Ranks getestet.

Wurden eine bzw. mehrere Versuchsgruppen unter Berücksichtigung der Messzeitpunktfolge ausgewertet, schloss sich bei Normalverteilung zur Analyse der Varianz zwischen den Gruppen eine 1- bzw. 2-Wege ANOVA mit Messwiederholung an. Die dadurch gewonnenen Ergebnisse wurden mittels eines Student-Newman-Keuls Test auf signifikante Unterschiede hin überprüft. Zur Prüfung der Veränderungen über die Zeit bei

nicht normal-verteilten Daten wurde ein Friedman ANOVA-on-Ranks Test mit Messwiederholung durchgeführt.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Die in Text und Tabellen dargestellten Werte sind, sofern nicht anders angegeben, Mittelwerte \pm Standardabweichung (\pm SD). Signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Versuchsgruppen wurden mit einem *, signifikante Unterschiede innerhalb einer Gruppe im Verlauf von T1 bis T9 wurden mit einer # oder einem † gekennzeichnet.

4 Ergebnisse

Insgesamt flossen die Datensätze von 28 Versuchstieren in die Auswertung ein. In den beiden Versuchsgruppen mit aortaler Okklusion (Sevofluran-I/R-Gruppe, Propofol-I/R-Gruppe) wurden jeweils $n = 9$ Tiere ausgewertet. Bei den Gruppen ohne Verschluss der thorakalen Aorta (Sevofluran-VoO, Propofol-VoO) wurden je $n = 5$ Experimente ausgewertet.

Hinsichtlich Körpergewicht (P-I/R $29 \text{ kg} \pm 2$; S-I/R $28 \text{ kg} \pm 3$) und Geschlecht (jeweils $m/w = 4/5$) bestand in den Ischämie-Reperfusionen kein Unterschied.

4.1 Gallefluss

Der gemessene Gallefluss wurde als Prozent vom Ausgangswert ($T1 = 100\%$) berechnet.

In beiden Interventionsgruppen kam es in der Ischämiephase zunächst zu signifikanten Abfällen des Galleflusses. Bei den Sevofluran-I/R-Tieren konnten zum Zeitpunkt T3 noch 7.6% ($^{\#}p < 0.05$) und bei den Propofol-I/R-Tieren noch 4.4% ($^{\#}p < 0.05$) des Ausgangswertes registriert werden (Abb. 11).

Eine Stunde nach Beginn der Reperusionsphase ($T5$) begann sich der Gallefluss in beiden Gruppen leicht zu erholen (P-I/R $17.0\% \pm 10.6$; S-I/R $17.3\% \pm 13.1$). Die weitere Steigerung des Galleflusses in der Post-Ischämiephase war in der Propofol-I/R-Gruppe ausgeprägter und lag hier ab Messzeitpunkt T7 bis zum Ende des Versuches bei über 50% des Ausgangswertes. Eine geringere Erholung des Galleflusses wurde in der Sevofluran-I/R-Gruppe beobachtet. Hier erreichte der Gallefluss zum Messzeitpunkt T9 $33.7\% \pm 25.1$ im Vergleich zu $55.8\% \pm 36.3$ in der Propofol-I/R-Gruppe. Dieser Unterschied war statistisch aber nicht signifikant ($p = 0.160$). In Bezug auf die jeweiligen Basiswerte T1 fand sich sowohl in der Propofol- als auch in der Sevofluran-I/R-Gruppe am Ende des Versuches bei T9 ein signifikanter Rückgang des Galleflusses ($^{\dagger}p < 0.05$).

In beiden Versuchsgruppen ohne aortale Okklusion wurden unterschiedliche Verläufe beobachtet. Bei den Propofol-Tieren zeigte sich zunächst eine Zunahme des Galleflusses, der erst ab Messzeitpunkt T8 unter den Ausgangswert abfiel ($86.1\% \pm 32.0$) und bei Versuchsende T9 noch $86.1\% \pm 39.1$ betrug. Hingegen fiel der Gallefluss in der Sevofluran-

VoO-Gruppe bereits zum äquivalenten Zeitpunkt T3 auf 64.6 % ±26.8 ab und hielt sich sodann ohne weitere Veränderungen auf diesem Niveau.

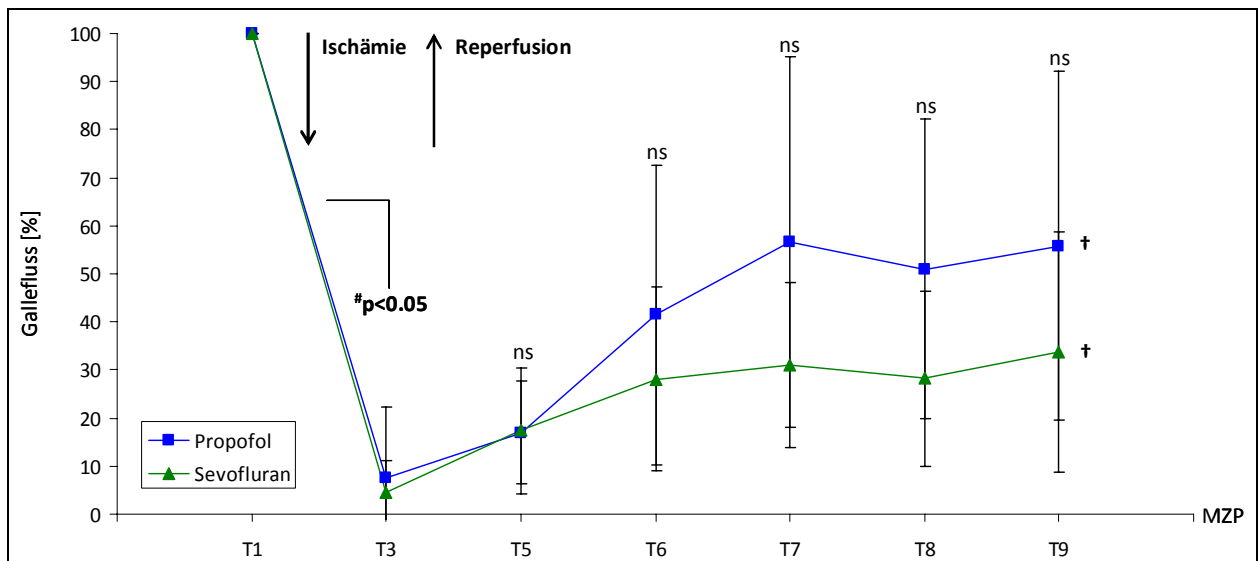


Abb. 11: Gallefluss. (I/R-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert ± Standardabweichung. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant. #p<0.05 beide Gruppen T1 vs. T2; †p<0.05 beide Gruppen T1 vs. T9)

4.2 Enzymaktivitäten AST, ALT und GLDH

Während der Ischämiephase stiegen die Aktivitäten der Enzyme AST und ALT im Vergleich zu den Ausgangswerten T1 nur geringfügig an. Mit Einsetzen der Reperfusion wurde eine deutliche Zunahme der Enzymaktivitäten in beiden Interventionsgruppen beobachtet. Im Vergleich zur Sevofluran-I/R-Gruppe war dieser Anstieg jedoch in der Propofol-I/R-Gruppe zu den Messzeitpunkten T6 und T9 signifikant ausgeprägter (Abb. 12 und Abb. 13; *p<0.05).

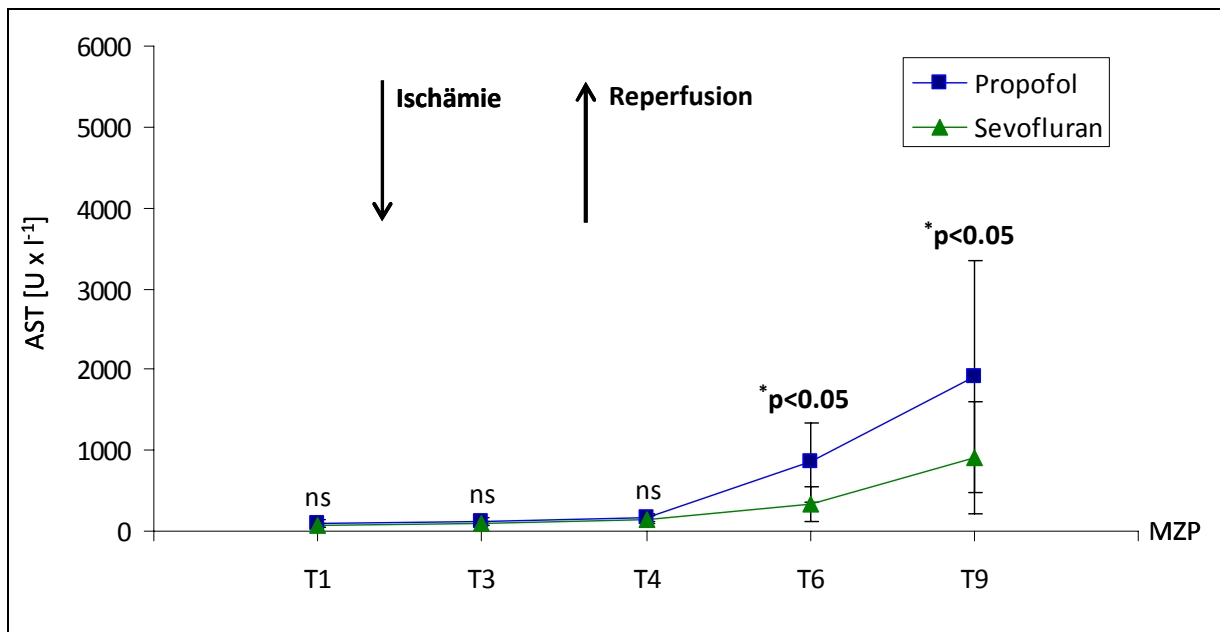


Abb. 12: Aspartat-Aminotransferase [AST]. (I/R-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant. * $p < 0.05$ Sevofluran vs. Propofol) [¹¹]

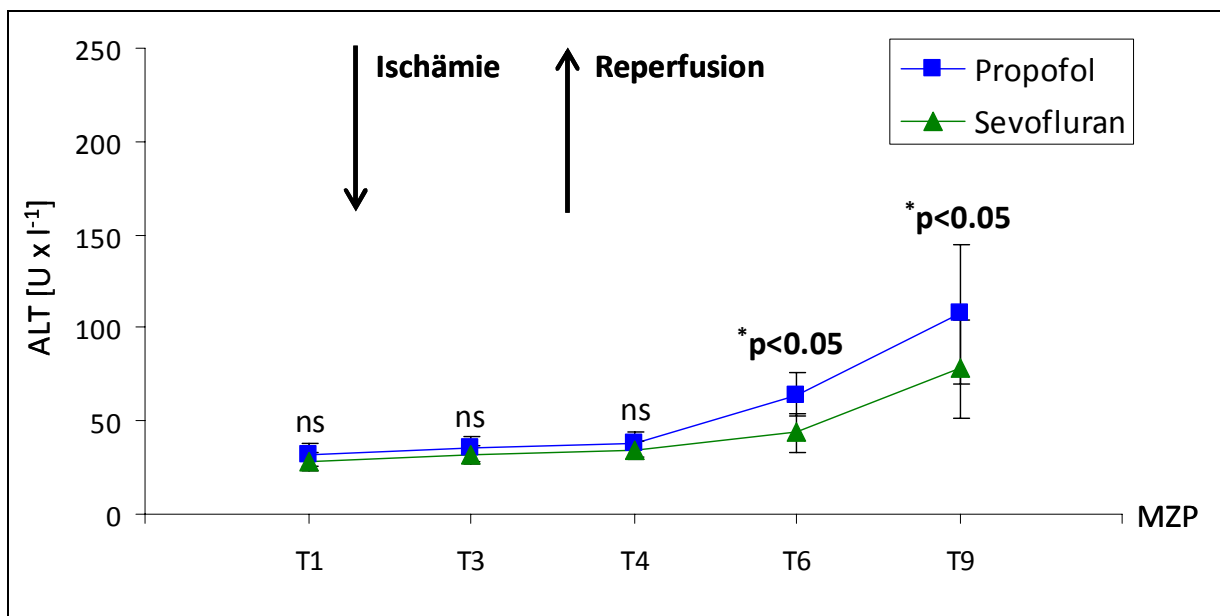


Abb. 13: Alanin-Aminotransferase [ALT]. (I/R-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant. * $p < 0.05$ Sevofluran vs. Propofol) [¹¹]

Die Aktivität der Glutamatdehydrogenase (GLDH) lag bis zum Ende der Ischämiephase in der Sevofluran-I/R-Gruppe tendenziell höher. Mit Beginn der Reperfusion stieg die Aktivität in beiden Ischämie-Reperfusionen zunächst auf ein vergleichbares Niveau an. 5 Stunden

nach Reperfusionbeginn am Ende des Versuches (T9) lag die GLDH-Aktivität in der Propofol-I/R-Gruppe signifikant über der Aktivität in der Sevofluran-I/R-Gruppe (Abb. 14; * $p < 0.05$).

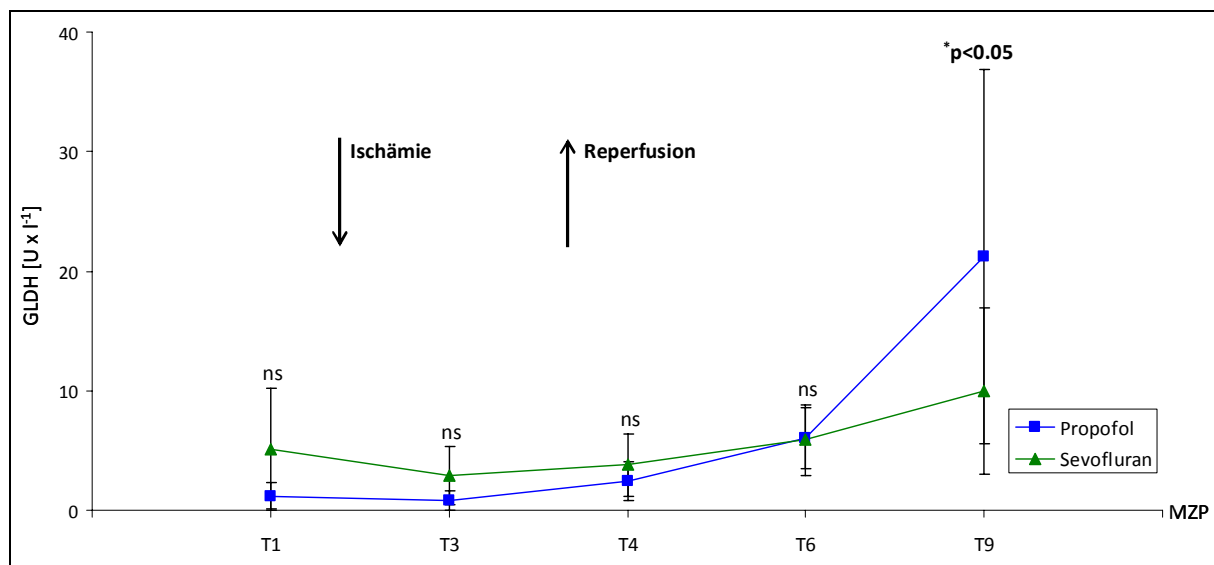


Abb. 14: Glutamatdehydrogenase [GLDH]. (I/R-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant. * $p < 0.05$ Sevofluran vs. Propofol)

In den Versuchsgruppen ohne aortale Okklusion wurden im Beobachtungszeitraum nur geringe Anstiege von AST, ALT und GLDH (Tabelle 4) festgestellt.

4.3 Leberhistologie

Alle HE-gefärbten Schnitte, der am Ende des Versuches (T9) entnommenen Leberportionen, zeigten Schäden gemäß der histologischen Gradeinteilung (Tabelle 1). Es konnte kein Unterschied festgestellt werden zwischen den beiden Ischämie-Reperfusionsgruppen (P-I/R, 2.2 ± 0.7 ; S-I/R, 2.4 ± 0.7). Ebenso bestand kein Unterschied dieser Interventionsgruppen im Vergleich zu den Tieren, welche der aortalen Okklusion nicht ausgesetzt waren (P-VoO, 2.2 ± 0.8 ; S-VoO, 2.0).

4.4 Wet/Dry-Ratio

Als Maß für die Ausbildung eines Gewebeödems wurde die Wet/Dry-Ratio bestimmt. Die Quotienten aus Leberfeucht- zu Lebertrockengewicht zeigten in den I/R-Gruppen vergleichbare Werte (Tabelle 1). Trotz thorakaler Aortenokklusion konnte auch kein Unterschied zwischen den I/R-Gruppen (P-I/R, 4.8 ± 0.6 ; S-I/R, 4.4 ± 0.4) im Vergleich zu den VoO-Gruppen (P-VoO, 4.3 ± 0.3 ; S-VoO, 4.2 ± 0.6) festgestellt werden.

4.5 Granulozyteninfiltration

Zur Detektion eingewanderter polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten (PMN) wurde eine Esterase-Färbung durchgeführt. Unter dem Lichtmikroskop wurden diese durch die Färbung markierten Zellen in je 15 Gesichtsfeldern gezählt und der Mittelwert mit Standardabweichung errechnet (Tabelle 1).

In der Propofol-I/R-Gruppe wurden tendenziell mehr gefärbte Zellen pro Gesichtsfeld als in der Sevofluran-I/R-Gruppe registriert (P-I/R, 70.1 ± 35.8 ; S-I/R 54.6 ± 10.2). Ein signifikanter Unterschied ergab sich jedoch nicht ($p = 0.230$).

Ebenso erreichte der beobachtete Unterschied zwischen der P-I/R-Gruppe und der P-VoO-Gruppe (P-VoO, 38.6 ± 15.1) keine statistische Signifikanz ($p = 0.089$).

Weiterhin zeigte sich, dass zwischen den beiden Sevofluran-Versuchsgruppen kein Unterschied bestand (S-I/R, 54.6 ± 10.2 ; S-VoO, 51.7 ± 13.5).

Tabelle 1: Hepatischer Gewebeschaden. Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung.

	I/R-Gruppen	VoO-Gruppen
Leberhistologie [Punktwert]		
Propofol	2.2 ± 0.7	2.2 ± 0.8
Sevofluran	2.4 ± 0.7	2.0 ± 0.0
Wet/Dry-Ratio		
Propofol	4.8 ± 0.6	4.3 ± 0.3
Sevofluran	4.4 ± 0.4	4.2 ± 0.6
Granulozyteninfiltration		
Propofol	70.1 ± 35.8	38.6 ± 15.1
Sevofluran	54.6 ± 10.2	51.7 ± 13.5

4.6 Hämodynamik

Zum Zeitpunkt T1 wurden in den Ischämie-Reperfusionen Gruppen die Ausgangswerte der Hämodynamik erhoben (Tabelle 3).

Nach Induzierung der Ischämiephase wurde eine Zunahme von Herzfrequenz, MAP und systemvaskulärem Widerstand (SVR) registriert, wobei MAP und SVR in der S-I/R-Gruppe stärker anstiegen (* $p < 0.05$). Die Ballonokklusion führte zu einem Sistieren des portalen Blutflusses in der Ischämiephase (Abb. 15).

Mit Einsetzen der Reperfusion fielen MAP und SVR in beiden Interventionsgruppen signifikant ab. Aufgrund der durchgeführten Maßnahmen gemäß der zielorientierten Therapie wurden im weiteren Verlauf keine signifikanten Änderungen von MAP, PCWP, HI und SVR festgestellt. Der Anteil des portalen Blutflusses am Herzindex lag in beiden Interventionsgruppen 5 Minuten nach Reperfusion wieder nahe der Ausgangswerte (P-I/R $19.5 \% \pm 7.5$; S-I/R $17.9 \% \pm 7.3$). In der ersten Stunde der Reperfusion nahm dieser Anteil noch weiter zu und zeigte bis zum Ende des Versuches keinen Unterschied zwischen den beiden Interventionsgruppen.

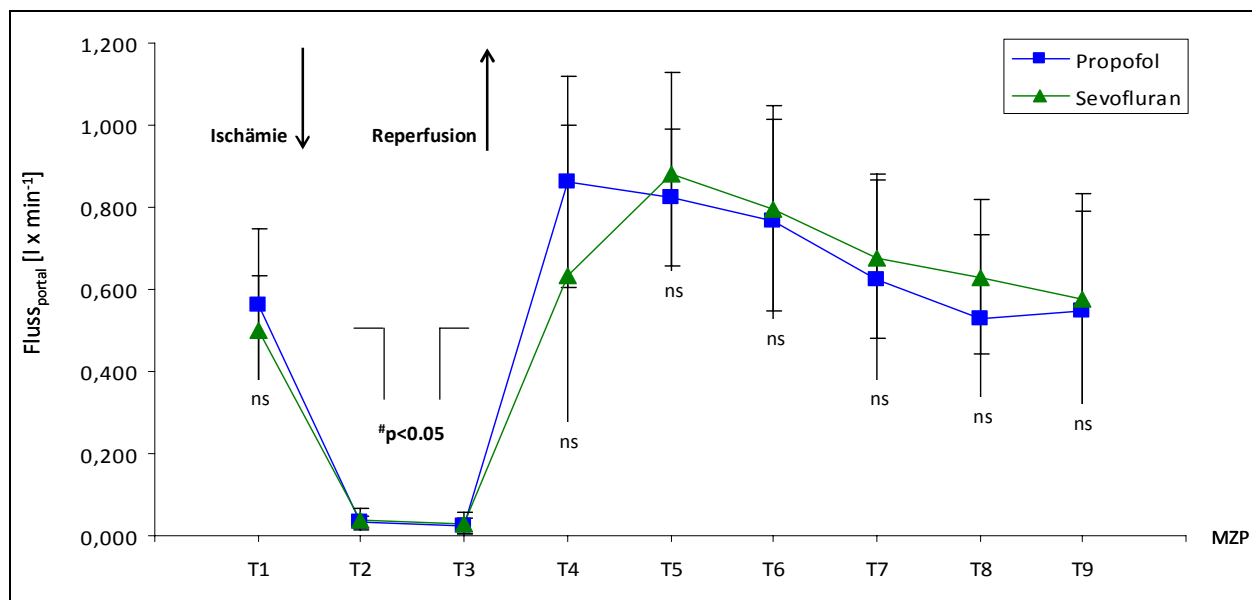


Abb. 15: Portaler Blutfluss [Fluss_{portal}]. (I/R-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant. # $p < 0.05$ beide Gruppen T1 vs. T2 und T3 vs. T4)

Der Bedarf an Flüssigkeit zur Volumenunterstützung sowie Natriumbikarbonat zur Pufferung war in beiden Gruppen gleich (Tabelle 2).

Die Notwendigkeit zur Kreislaufunterstützung mittels Applikation von Vasopressoren war in beiden Gruppen gegeben (Tabelle 2). In der Sevofluran-I/R-Gruppe wurde eine signifikante Verringerung der Infusionsrate von Noradrenalin im Versuchsverlauf registriert (T4-T9: Sevofluran, Friedman-Test [#]p<0.05). Insgesamt 4/9 Versuchstieren der S-I/R-Gruppe bedurften zum Zeitpunkt T9 keiner weiteren Infusion von Katecholaminen. Alle 9 Tiere der P-I/R-Gruppe hingegen benötigten während der gesamten Reperfusionphase Noradrenalin zur Kreislaufunterstützung. Die Kriterien zur zusätzlichen Anwendung von Adrenalin waren bei 4/9 Tieren der P-I/R-Gruppe und bei 3/9 Tieren der S-I/R-Gruppe erfüllt.

Tabelle 2: Ischämie-Reperfusionsgruppen: Bedarf an Katecholaminen, Flüssigkeit und Natriumbikarbonat. Daten angegeben als Median (Q1; Q3) oder Mittelwert ± Standardabweichung. *p<0.05 T4-T9 Friedman Test [¹¹]

	T1	T3	T5	T6	T7	T9
Flüssigkeit [ml]						
Propofol	3273 ± 773	4722 ± 882	7655 ± 1270	8826 ± 1311	9890 ± 1547	11765 ± 1785
Sevofluran	3526 ± 490	4741 ± 547	7410 ± 927	8513 ± 1236	9526 ± 1510	11415 ± 1569
Pufferlösung [ml]						
Propofol	117 ± 35	261 ± 49	361 ± 55	478 ± 112		
Sevofluran	106 ± 37	239 ± 60	317 ± 97	400 ± 162		
Noradrenalin [$\mu\text{g kg}^{-1} \text{min}^{-1}$]						
Propofol	2.9 (1.4; 3.6)	2.3 (1.0; 3.4)	1.7 (0.9; 3.1)	1.5 (0.5; 3.1)		
Sevofluran	1.4 (0.8; 3.4)	1.2 (0.8; 1.9)	0.7 (0.6; 1.6)	0.1 (0.0; 2.3)*		
Adrenalin [$\mu\text{g kg}^{-1} \text{min}^{-1}$]						
Propofol	0.0 (0.0; 0.4)	0.0 (0.0; 0.8)	0.0 (0.0; 1.2)	0.0 (0.0; 1.9)		
Sevofluran	0.0 (0.0; 0.0)	0.0 (0.0; 0.1)	0.0 (0.0; 0.1)	0.0 (0.0; 1.4)		

Tabelle 3: Ischämie-Reperfusionen: Variablen der Hämodynamik und des Sauerstofftransportes. Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. AW = Ausgangswert. *p<0.05 Sevofluran vs. Propofol; #p<0.05 T1 vs. T2, T3,...; †p<0.05 T4 vs. T5 [11]

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T9
	AW	Ischämie		Reperfusion				
HF [Schläge min ⁻¹]								
Propofol	81 \pm 15	151 \pm 42	110 \pm 16	135 \pm 28	149 \pm 33	152 \pm 26	155 \pm 31	142 \pm 23
Sevofluran	76 \pm 17	155 \pm 36	122 \pm 12	141 \pm 17	134 \pm 13	127 \pm 15*	113 \pm 27*	104 \pm 20*
MAP [mmHg]								
Propofol	79 \pm 12	94 \pm 17	94 \pm 17	52 \pm 9	54 \pm 9	52 \pm 8	52 \pm 7	52 \pm 5
Sevofluran	68 \pm 10*	130 \pm 15*	108 \pm 15*	57 \pm 17	55 \pm 3	57 \pm 6	55 \pm 4	53 \pm 10
HI [l m ⁻² min ⁻¹]								
Propofol	2.88 \pm 0.56	3.33 \pm 0.96	3.55 \pm 0.87	4.63 \pm 0.89	3.90 \pm 1.24	3.50 \pm 1.12	2.92 \pm 0.87	2.88 \pm 0.96
Sevofluran	2.45 \pm 0.49	3.32 \pm 0.68 [#]	3.09 \pm 0.80	4.16 \pm 0.86	3.36 \pm 0.54	3.25 \pm 0.22	2.97 \pm 0.46	2.49 \pm 0.69
PCWP [mmHg]								
Propofol	7 \pm 2	6 \pm 2	7 \pm 2	8 \pm 3	8 \pm 4	8 \pm 1	7 \pm 1	7 \pm 2
Sevofluran	6 \pm 2	6 \pm 2	7 \pm 2	6 \pm 2	6 \pm 2	6 \pm 2	6 \pm 1	7 \pm 1
SVR [Dyn s cm ⁻⁵ m ⁻²]								
Propofol	2113 \pm 283	2195 \pm 453	2050 \pm 573	820 \pm 334	984 \pm 300	1088 \pm 343	1302 \pm 358	1437 \pm 512
Sevofluran	2080 \pm 407	3031 \pm 716*	2712 \pm 492*	953 \pm 161	1169 \pm 265	1256 \pm 202	1329 \pm 223	1573 \pm 180
Fluss _{portal} / HI [l min ⁻¹]								
Propofol	0.20 \pm 0.08	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.20 \pm 0.08	0.23 \pm 0.08	0.24 \pm 0.10	0.22 \pm 0.10	0.20 \pm 0.088
Sevofluran	0.21 \pm 0.07	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.18 \pm 0.07	0.27 \pm 0.10 [#]	0.25 \pm 0.08	0.23 \pm 0.07	0.23 \pm 0.09
Fluss _{portal} [l min ⁻¹]								
Propofol	0.56 \pm 0.19	0.03 \pm 0.01	0.02 \pm 0.02	0.86 \pm 0.26 [#]	0.82 \pm 0.17 [#]	0.77 \pm 0.25 [#]	0.63 \pm 0.25	0.55 \pm 0.24
Sevofluran	0.50 \pm 0.13	0.04 \pm 0.03	0.03 \pm 0.03	0.63 \pm 0.37 [#]	0.88 \pm 0.25 [#]	0.80 \pm 0.25 [#]	0.68 \pm 0.19 [#]	0.58 \pm 0.26
O ₂ -Extraktion total [%]								
Propofol	35 \pm 10	14 \pm 3	13 \pm 6	28 \pm 7	29 \pm 10	30 \pm 8	35 \pm 8	39 \pm 6
Sevofluran	38 \pm 6	13 \pm 3	15 \pm 4	31 \pm 5	28 \pm 6	32 \pm 7	40 \pm 9	47 \pm 12*
O ₂ -Extraktion mes. [%]								
Propofol	31 \pm 6	-	-	30 \pm 12	22 \pm 13	25 \pm 15	29 \pm 12	36 \pm 13
Sevofluran	36 \pm 6	-	-	36 \pm 6	19 \pm 4	22 \pm 4	27 \pm 5	35 \pm 10
CpvO ₂ [ml O ₂ /100ml]								
Propofol	7.33 \pm 0.92	2.59 \pm 1.80	1.55 \pm 1.61	4.98 \pm 2.04 [#]	5.84 \pm 2.57	6.00 \pm 2.28	5.56 \pm 1.59	4.70 \pm 1.67
Sevofluran	6.47 \pm 1.00	2.97 \pm 0.90	1.87 \pm 0.81	5.06 \pm 0.99 [#]	6.48 \pm 1.05 [†]	6.05 \pm 1.14	5.23 \pm 1.38	4.55 \pm 1.34

Bei allen Versuchstieren ohne Aortenclamping lagen stabile Ausgangswerte zum Messzeitpunkt T1 vor, wobei in der Sevofluran-VoO-Gruppe niedrigere MAP-Werte gemessen

wurden (Tabelle 4). Für die Dauer des gesamten Experimentes war der mittlere aortale Blutdruck stabil, so dass in keiner Gruppe eine Applikation von Vasopressoren nötig war. Insbesondere blieb auch der Anteil des portalen Blutflusses am Herzindex innerhalb dieser Versuchsgruppen konstant (Abb. 16).

Tabelle 4: Versuchsgruppen ohne Okklusion: Variablen der Hämodynamik, Laktatkonzentration und Serumenzymaktivitäten. Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. * $p < 0.05$ S-VoO vs. P-VoO

	T1	T3	T5	T6	T7	T9
HF [Schläge min^{-1}]						
Propofol	63 \pm 9	74 \pm 11	82 \pm 16	82 \pm 14	72 \pm 13	67 \pm 10
Sevofluran	73 \pm 15	80 \pm 24	83 \pm 17	84 \pm 22	93 \pm 24	93 \pm 15*
MAP [mmHg]						
Propofol	83 \pm 11	74 \pm 13	61 \pm 8	63 \pm 7	63 \pm 7	67 \pm 8
Sevofluran	69 \pm 16*	72 \pm 11	61 \pm 8	64 \pm 13	67 \pm 7	66 \pm 9
HI [$\text{l m}^{-2} \text{min}^{-1}$]						
Propofol	2.47 \pm 0.40	2.39 \pm 0.32	1.97 \pm 0.26	2.25 \pm 0.26	1.84 \pm 0.24	1.62 \pm 0.31
Sevofluran	2.72 \pm 0.68	2.49 \pm 0.56	2.26 \pm 0.45	2.42 \pm 0.36	2.31 \pm 0.18*	2.15 \pm 0.19*
Fluss _{portal} /HI [l min^{-1}]						
Propofol	0.22 \pm 0.04	0.23 \pm 0.02	0.25 \pm 0.03	0.26 \pm 0.04	0.24 \pm 0.03	0.25 \pm 0.04
Sevofluran	0.19 \pm 0.07	0.18 \pm 0.07	0.19 \pm 0.07	0.20 \pm 0.01	0.23 \pm 0.04	0.22 \pm 0.05
Laktat [mmol l^{-1}]						
Propofol	1.65 \pm 0.51	1.20 \pm 0.36	1.06 \pm 0.30	1.21 \pm 0.84	1.10 \pm 0.48	0.88 \pm 0.11
Sevofluran	1.25 \pm 0.43	0.93 \pm 0.12	0.82 \pm 0.13	0.76 \pm 0.11	0.97 \pm 0.67	0.80 \pm 0.25
LDH [U l^{-1}]						
Propofol	453 \pm 83	482 \pm 86	-	492 \pm 78	-	490 \pm 155
Sevofluran	384 \pm 85	412 \pm 155	-	481 \pm 91	-	554 \pm 78
AST [U l^{-1}]						
Propofol	72 \pm 29	84 \pm 28	-	113 \pm 28	-	169 \pm 52
Sevofluran	64 \pm 20	143 \pm 161	-	154 \pm 144	-	210 \pm 155
ALT [U l^{-1}]						
Propofol	31 \pm 6	31 \pm 7	-	34 \pm 6	-	42 \pm 18
Sevofluran	31 \pm 6	31 \pm 10	-	39 \pm 15	-	37 \pm 9
GLDH [U l^{-1}]						
Propofol	0.9 \pm 0.34	1.13 \pm 0.70	-	1.52 \pm 0.85	-	1.24 \pm 0.59
Sevofluran	1.48 \pm 0.70	1.37 \pm 1.00	-	1.06 \pm 0.75	-	2.72 \pm 0.86

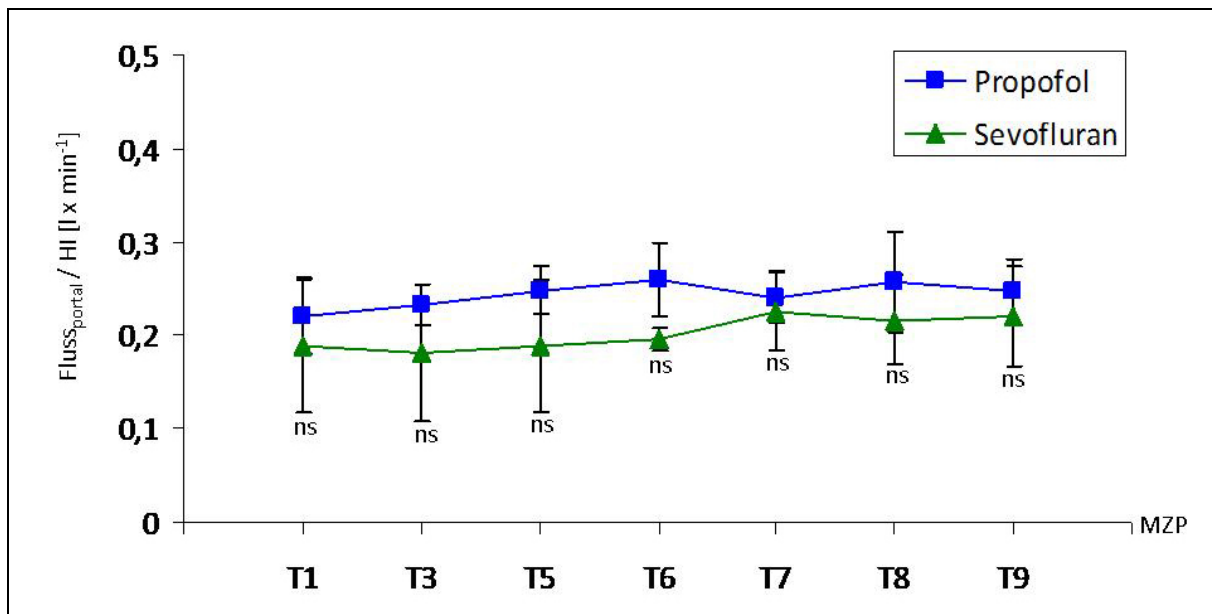


Abb. 16: Anteil des portalen Blutflusses am Herzindex [Fluss_{portal}/HI]. (VoO-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant)

4.7 Sauerstofftransport

Der Verlauf der DO_{2port} (Sauerstoffangebot an die Leber über die Pfortader) war in beiden Interventionsgruppen auf Veränderungen sowohl des portalen Blutflusses als auch des portalvenösen Sauerstoffgehaltes zurückzuführen (Abb. 17 und Tabelle 3).

In den Ischämie-Reperfusionen fanden sich zum Zeitpunkt T1 vergleichbare Ausgangswerte des Sauerstoffangebotes (P-I/R $40.3 \text{ ml} \times \text{min}^{-1} \pm 11.7$; S-I/R $32.5 \text{ ml} \times \text{min}^{-1} \pm 9.0$). Die Ballonokklusion bedingte eine starke Abnahme des portalen Blutflusses und führte somit zu einer signifikanten Reduzierung der DO_{2port} in der Ischämiephase ($\#p < 0.05$). Ebenso nahm der portalvenöse Sauerstoffgehalt stark ab. Bereits 5 Minuten nach Einsetzen der Reperfusion (T4) lag in beiden Interventionsgruppen das Sauerstoffangebot über die Pfortader wieder im Bereich der Ausgangswerte (P-I/R $42.1 \text{ ml} \times \text{min}^{-1} \pm 21.7$; S-I/R $38.1 \text{ ml} \times \text{min}^{-1} \pm 17.3$). Dies wurde bei deutlich reduziertem $CpvO_2$ im Vergleich zum Ausgangswert (T1-T4; $\#p < 0.05$) durch einen signifikant erhöhten portalen Blutfluss erreicht (T1-T4; $\#p < 0.05$). Im Verlauf der Reperusionsperiode wurde dann auch eine Zunahme des portalvenösen Sauerstoffgehaltes registriert. In der Propofol-I/R-Gruppe konnten bis zwei Stunden (T5 und T6) und in der Sevofluran-I/R-Gruppe bis drei Stunden (T5 bis T7) nach Ende der

Ischämiephase statistisch bedeutsam erhöhte portale Blutflüsse gegenüber den Ausgangswerten gemessen werden ($\# < 0.05$).

Im weiteren Verlauf der Reperfusionphase sank das Sauerstoffangebot über die Pfortader zunehmend ab. In beiden Interventionsgruppen zeigte sich im Vergleich mit den Ausgangswerten vom Messzeitpunkt T7 an bis Versuchsende ein reduzierter Sauerstoffgehalt in der Pfortader ($\# < 0.05$). In der Propofol-I/R-Gruppe betrug die DO_{2port} am Ende des Versuches (T9) $26.1 \text{ ml min}^{-1} \pm 16.5$ und damit noch 64.7 % des Ausgangswertes ($p=0.051$). Am gleichen Messzeitpunkt wurden in der Sevofluran-I/R-Gruppe $27.8 \text{ ml min}^{-1} \pm 14.5$ gemessen, was 85.6 % des Ausgangswertes entsprach. Dieser Unterschied zwischen den Interventionsgruppen in der DO_{2port} am Versuchsende war nicht signifikant.

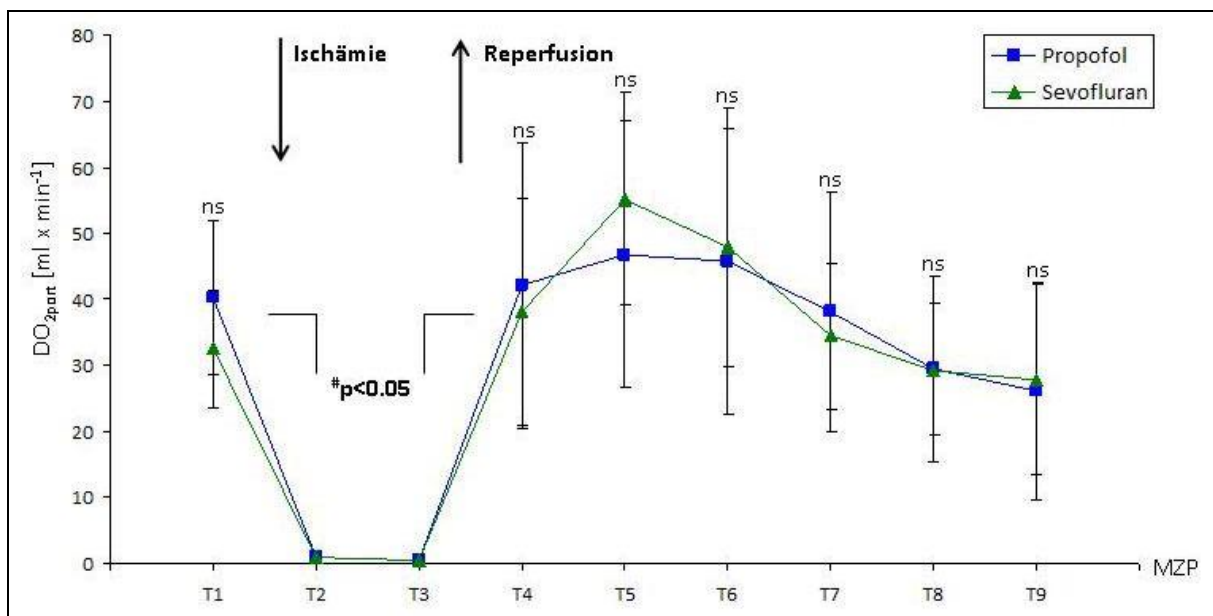


Abb. 17: Sauerstoffangebot an die Leber über die Pfortader [DO_{2port}]. (I/R-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant. $\#p < 0.05$ beide Gruppen T1 vs. T2 und T3 vs. T4)

In den beiden Versuchsgruppen, die der aortalen Okklusion nicht ausgesetzt wurden, fanden sich ähnliche Ausgangswerte (P-VoO 38.7 ± 9.5 ; S-VoO 37.9 ± 19.5). In der Sevofluran-VoO-Gruppe traten im Versuchsverlauf keine Veränderungen des Sauerstoffangebots an die Leber über die Pfortader auf. Am Versuchsende (T9) wurde bei diesen Tieren eine DO_{2port} von 40.5 ml min^{-1} gemessen.

Dahingegen wurde in der Propofol-VoO-Gruppe zu den Messzeitpunkten T8 ($25.9 \text{ ml min}^{-1} \pm 4.0$) und T9 ($24.4 \text{ ml min}^{-1} \pm 2.5$) ein Sauerstoffangebot registriert, das signifikant unter dem Ausgangswert lag ($^{\#}p < 0.05$). Dies war bei gleich bleibendem portalvenösem Sauerstoffgehalt auf einen reduzierten portalen Blutfluss zurück zu führen, der verglichen mit dem Ausgangswert zu den Zeitpunkten T7, T8 und T9 signifikant vermindert war.

Hinsichtlich des Gesamtsauerstoffverbrauches ($VO_{2\text{total}}$) unterschieden sich die Ischämie-Reperfusionen nicht signifikant voneinander. Die induzierte Ischämiephase führte in beiden Interventionsgruppen zu einer deutlichen Reduktion der $VO_{2\text{total}}$ ($^{\#}p < 0.05$). Mit Beginn der Reperfusionen bis zum Ende des Experimentes stieg diese wieder auf Werte nahe der Ausgangswerte an.

Sowohl für die totale ($O_2\text{-ER}_{\text{total}}$) als auch die mesenteriale ($O_2\text{-ER}_{\text{mes}}$) Sauerstoffextraktion ergaben sich in beiden Interventionsgruppen keine signifikanten Unterschiede bis zum Messzeitpunkt T9, bei dem die $O_2\text{-ER}_{\text{total}}$ in der Sevofluran-I/R-Gruppe etwas höher lag (Tabelle 3, $*p < 0.05$).

4.8 Hämoglobinwert und Leukozytenzahl

Der Hämoglobinwert [g liter^{-1}] nahm während des Versuchsverlaufs in beiden Ischämie-Reperfusionen gleichsinnig ohne signifikanten Unterschied ab (Tabelle 5).

Die Zahl der Leukozyten [10^9 liter^{-1}] nahm in beiden Okklusionsgruppen deutlich ab. Während der ersten Stunde nach Reperfusionenbeginn, erfasst zu den Zeitpunkten T4 und T5, war die Leukozytenzahl in der Propofol-I/R-Gruppe signifikant niedriger ($*p < 0.05$) im Vergleich zur Sevofluran-I/R-Gruppe.

Tabelle 5: Ischämie-Reperfusionen: Hämoglobinkonzentration und Leukozytenzahl. Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. * $p < 0.05$ Sevofluran vs. Propofol [¹¹]

	T1	T3	T4	T5	T6	T7	T9
Hämoglobin [g l^{-1}]							
Propofol	6.7 \pm 0.9	6.1 \pm 0.9	4.9 \pm 0.7	5.4 \pm 0.9	5.5 \pm 0.7	5.2 \pm 0.8	4.8 \pm 1.0
Sevofluran	6.4 \pm 1.1	5.8 \pm 1.4	4.7 \pm 0.9	5.3 \pm 1.0	5.2 \pm 1.4	4.8 \pm 1.9	4.2 \pm 1.6
Leukozyten [10^9 l^{-1}]							
Propofol	10.4 \pm 4.0	8.7 \pm 2.3	5.6 \pm 1.9	4.2 \pm 1.6	2.9 \pm 1.3	3.6 \pm 2.2	3.8 \pm 2.0
Sevofluran	12.2 \pm 4.3	9.5 \pm 3.4	8.0 \pm 3.4*	6.7 \pm 1.4*	4.9 \pm 2.0	4.1 \pm 1.8	4.2 \pm 1.9

In den beiden Gruppen ohne aortale Okklusion bestanden hinsichtlich des Hämoglobinwertes keine Unterschiede. Für die Zahl der Leukozyten wurden in der Sevofluran-VoO-Gruppe im Versuchverlauf keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Bei den Propofol-Tieren zeigte sich hier ein stetiger Abfall.

4.9 Laktatkonzentration und Enzymaktivität LDH

Der Ischämie-Reperfusionsschaden führte zu einer exzessiven Zunahme der Laktatkonzentration [mmol l^{-1}] in beiden Okklusionsgruppen. Mit Einsetzen der Reperfusion ab dem Zeitpunkt T4 zeigte sich in der Sevofluran-I/R-Gruppe eine abnehmende Tendenz der Laktatkonzentration (Abb. 18; T4-T9: # $p < 0.05$).

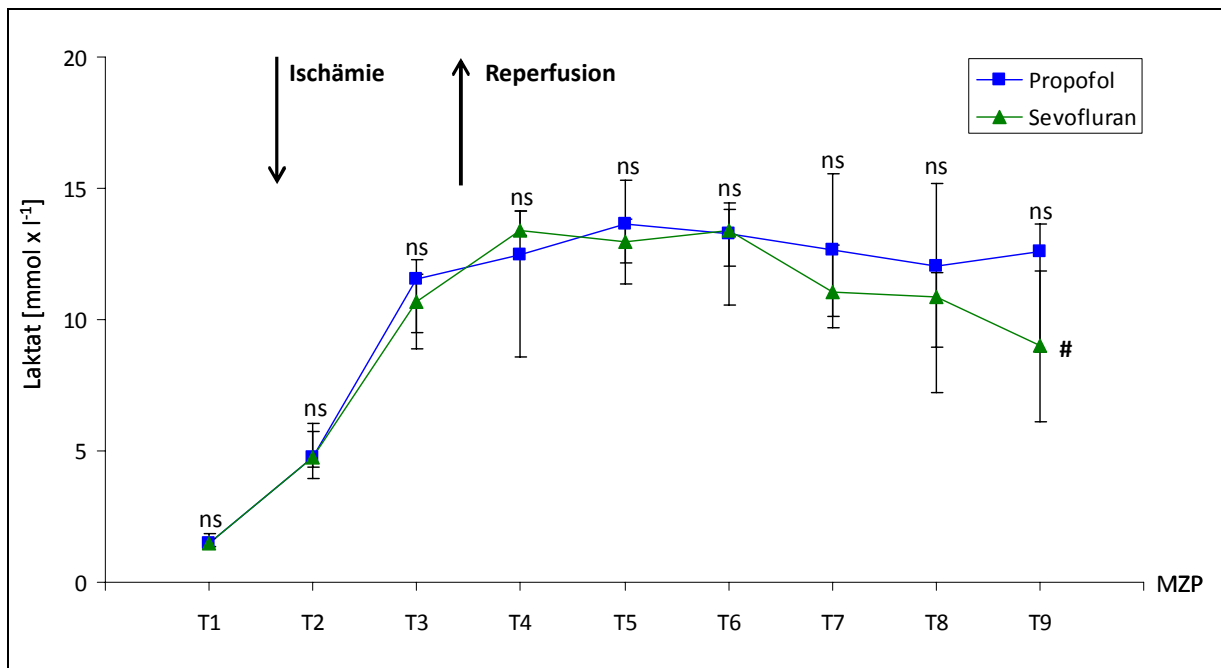


Abb. 18: Laktatkonzentration [Laktat]. (I/R-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert und Q1/Q3. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant; # $p < 0.05$ Sevofluran T4-T9 Friedman-Test; Propofol nicht signifikant) [11]

Die Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) in [U/l] blieb in beiden Interventionsgruppen während der Ischämiephase unverändert. Während der Reperfusion wurde ein Anstieg der LDH beobachtet, welcher allerdings in der Propofol-I/R-Gruppe signifikant größer war im Vergleich zur Sevofluran-I/R-Gruppe (Abb. 19; * $p < 0.05$).

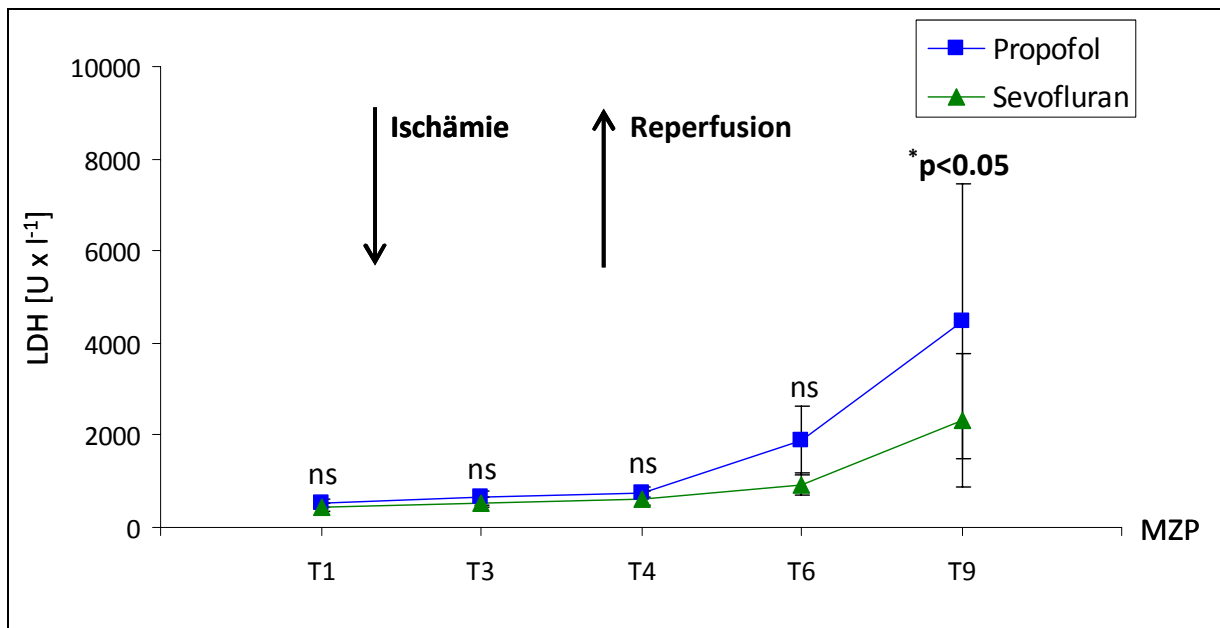


Abb. 19: Laktatdehydrogenase [LDH]. (I/R-Gruppen, Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. MZP = Messzeitpunkt, ns = nicht signifikant; * $p < 0.05$ Sevofluran vs. Propofol) [11]

Bei den Versuchsgruppen ohne aortale Okklusion wurde eine nahezu gleich bleibende Laktatkonzentration gemessen. Die Aktivität der Laktatdehydrogenase nahm nur sehr geringfügig zu (Tabelle 4).

4.10 Apoptosemarker

Zur Untersuchung auf das Vorliegen hepatozellulärer Apoptose wurden TUNEL-gefärbte Leberschnitte ausgewertet und die Aktivität des Apoptosemarkers Caspase-3 im Lebergewebe bestimmt.

4.10.1 TUNEL-Färbung

Die durch TUNEL-Färbung positiv markierten Zellen wurden unter dem Lichtmikroskop ausgezählt (Tabelle 6). In der Propofol-Gruppe, der aortal nicht-okkludierten Tiere, stellten sich nur wenig TUNEL-positive Zellen dar (5.4 ± 3.3). Dahingegen wurden in der Propofol-I/R-Gruppe signifikant mehr TUNEL-positive Zellen registriert (12.2 ± 5.9 ; # $p < 0.05$).

Auch in den beiden Versuchsgruppen, die Sevofluran als Studienmedikation erhielten, fanden sich in der I/R-Gruppe tendenziell mehr TUNEL-positive Zellen als bei den Versuchstieren ohne Okklusion (S-I/R, 9.2 ± 4.6 ; S-VoO 5.6 ± 2.5 ; $p = 0.133$).

Zwischen den beiden Ischämie-Reperfusionen konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (P-I/R 12.2 ± 5.9 ; S-I/R 9.2 ± 4.6 ; $p = 0.270$).

Tabelle 6: Apoptosemarker. Daten angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung. # $p < 0.05$ P-I/R vs. P-VoO

	I/R-Gruppen	VoO-Gruppen
Tunel-positive Zellen		
Propofol	12.2 ± 5.9	$5.4 \pm 3.3^{\#}$
Sevofluran	9.2 ± 4.6	5.6 ± 2.5
Caspase-3-Aktivität		
Propofol	531.8 ± 561.1	117.6 ± 235.3
Sevofluran	402.0 ± 557.0	94.3 ± 181.0

4.10.2 Caspase-3-Assay

Die Aktivität der Caspase-3 [$\text{nmol } 20\text{min}^{-1} / 50\mu\text{g Protein}$] lag in der Propofol-VoO-Gruppe bei 117.6 ± 235.3 . In der Ischämie-Reperfusionen stieg der Wert bei den Propofol-Tieren auf 531.8 ± 561.1 an (Tabelle 6).

Auch bei den Sevofluran-Tieren lag die Aktivität in der VoO-Gruppe (94.3 ± 181.0) unter dem Wert der I/R-Gruppe (402.0 ± 557.0).

Zwischen den Studienmedikationen Propofol und Sevofluran bestand hinsichtlich der Caspase-3 Aktivität kein Unterschied.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Alle Versuchstiere der beiden Interventionsgruppen erlitten durch die temporäre thorakale Aortenokklusion einen schweren abdominalen Ischämie-Reperfusionsschaden.

Dies zeigte sich auf den Gesamtorganismus des Versuchstieres bezogen in hämodynamischer Instabilität, erhöhter Laktatkonzentration und im Anstieg der Serumaktivität intrazellulärer Enzyme. Hier waren in der Sevofluran-Gruppe – jeweils signifikant – eine geringere Katecholaminabhängigkeit, eine bessere Laktatclearance sowie eine niedrigere Enzymfreisetzung festzustellen.

Der Gallefluss als Leberfunktionsparameter nahm in beiden Ischämie-Reperfusionsgruppen deutlich und ohne statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ab.

Die eine hepatozelluläre Schädigung anzeigenden Enzymaktivitäten der AST, ALT und der leberspezifischen GLDH stiegen während des Experimentes in den Interventionsgruppen deutlich an. Jedoch erreichten sie in der Propofol-I/R-Gruppe signifikant höhere Messwerte als in der entsprechenden Sevofluran-Gruppe.

Die Auswertung histopathologischer HE-Färbungen als Grad für den hepatozellulären Schaden konnte, ebenso wie die Ermittlung von Leberfeucht- zu Lebertrockengewicht als Hinweis auf interstitielle Ödembildung, keinen Unterschied zwischen den vier Gruppen feststellen.

Der quantitative Vergleich der Leukozyteneinwanderung in das Lebergewebe als potentiell weiterem schädigendem Schritt in der Ischämie-Reperfusionssequenz zeigte in der Propofol-I/R-Gruppe eine tendenziell höhere Migration. Diesbezüglich wurden in der Propofol-I/R-Gruppe auch deutlich verringerte Blutleukozytenzahlen im Vergleich zu den Sevofluran-anästhesierten Tieren gemessen.

In beiden Interventionsgruppen kam es während der Aortenokklusion zu einem Abfall des portalen Leberblutflusses gegen Null. Unmittelbar nach Reperfusionsbeginn setzte eine reaktive Hyperämie ein. Im weiteren Verlauf näherte sich der portale Blutfluss, ohne einen

signifikanten Unterschied zwischen den Ischämie-Reperfusionen, wieder den Ausgangswerten.

Die Beurteilung der TUNEL-gefärbten Leberschnitte als Marker des apoptotischen Zellunterganges zeigte in der Sevofluran-I/R-Gruppe tendenziell und im Falle der Propofol-I/R-Gruppe signifikant mehr positive Zellen gegenüber den jeweiligen nicht-okkludierten Tieren.

Die Aktivität des Apoptoseinduktors Caspase-3 ergab unter den Versuchsgruppen keinen statistisch bedeutsamen Unterschied.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Gallefluss

Die Gallebildung ist ein energieabhängiger, osmotisch-bedingter Prozess, der von funktionierenden Transportsystemen in der Hepatozytenmembran abhängt². Die Galleflussrate ist abhängig von ausreichender Bereitstellung energiereicher Phosphate (ATP) und intrazellulärer Ca^{2+} -Homöostase¹⁶³. Ein durch Ischämie und Reperfusion induzierter Schaden der Hepatozyten und Cholangiozyten führt zu einer Verschlechterung von Aufnahme, Transport und Sekretion der Gallensäuren und Gallenflüssigkeit mit der Folge eines reduzierten Galleflusses und intrahepatischer Cholestase¹⁴⁶. Zusätzlich trägt oxidativer Stress durch die Bildung freier Sauerstoffradikale im Rahmen eines hepatischen oder intestinalen Ischämie-Reperfusionsschaden zur Verschlechterung des Galleflusses bei¹⁵⁸.

Der Gallefluss ist ein Parameter der Leberfunktion¹⁸, ein Marker des ischämisch bedingten Leberschaden^{20,184} sowie ein zuverlässiger Indikator des hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens¹⁴⁵.

In der vorliegenden Studie wurde die Erholung des Galleflusses zur Bewertung der postischämischen Leberfunktion herangezogen.

Der Gallefluss sank während der 90-minütigen Ischämie in beiden Interventionsgruppen rapide ab. Während der Reperusionsphase erholte sich der Gallefluss, blieb aber weit hinter dem Basiswert zurück. Es stellte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den

Interventionsgruppen ein. Jedoch war die Erholung des Galleflusses gegen Ende des Versuches in der Propofol-I/R-Gruppe tendenziell ausgeprägter als in der Sevofluran-Gruppe ($p=0,160$).

Dieser geringe Unterschied zwischen den Studienmedikationen könnte auf die antioxidative Wirkung von Propofol zurückzuführen sein¹⁷⁷. Oxidativer Stress wirkt cholestatisch durch eine Schädigung von für die Gallesekretion relevanten zellulären Strukturen¹⁵⁸.

Eine weitere Erklärung für den tendenziell höher gemessenen Gallefluss in der Propofol-Gruppe ist die osmotische Wirkung von Propofol und seiner Abbauprodukte, welche nach Metabolisierung aktiv in die Gallengänge transportiert werden¹³⁴. Osmolarität und Zusammensetzung der Gallenflüssigkeit wurden in der vorliegenden Studie nicht bestimmt, so dass dieser osmotische Effekt nicht quantifiziert werden kann. Jedoch ist dieser Stofftransport in die Gallengänge wie auch der Gallefluss von intakten Hepatozyten abhängig.

Es ist anzunehmen, dass der vermehrte Gallefluss unter den Propofol-Tieren, die keiner aortalen Okklusion unterzogen worden waren, im Vergleich zu den Sevofluran-VoO-Tieren auf dieser osmotischen Wirkung beruht.

Vollmar et al. demonstrierten eine direkte Korrelation zwischen erhöhtem Gallefluss, verbesserter sinusoidaler Leberperfusion und verringerter Enzymfreisetzung (AST und ALT) im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden¹⁸³. Allerdings wurde in dem benutzten Rattenmodell nur ein Leberlappen selektiv einer 60-minütigen Ischämie unterzogen und die Perfusion auch nur in diesem Lappen betrachtet, so dass sich die Ergebnisse nicht direkt auf die vorliegende Studie übertragen lassen. Neben der bekannten zusätzlichen Beeinträchtigung des Galleflusses durch eine intestinale Ischämie und Reperfusion^{154,180} ist bei der vollständigen abdominalen Ischämie von einer Schädigung der gesamten Leber auszugehen, so dass auch eine Kompensation durch nicht-ischämische Anteile ausgeschlossen ist.

Es ist anzumerken, dass die Beobachtungsdauer von fünf Stunden Reperfusion eventuell nicht ausreichend war, um einen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen festzustellen.

Als Ergebnis lässt sich festhalten, dass hinsichtlich des Galleflusses als Marker für die postischämische Leberfunktion nach abdominaler Ischämie und Reperfusion kein signifikanter Unterschied zwischen den Interventionsgruppen besteht. Keines der angewandten Studienmedikamente bewirkte innerhalb von fünf Stunden Reperfusion eine Erholung des Galleflusses auf das Niveau der Ausgangswerte. Der tendenziell höhere Gallefluss in der Propofol-I/R-Gruppe ist vermutlich überwiegend osmotisch bedingt und weniger auf eine größere Anzahl funktionierender Hepatozyten zurückzuführen. Dies wird durch die Beobachtung gestützt, dass die Enzymfreisetzung, welche eine hepatozelluläre Gewebeschädigung anzeigt (AST, ALT und GLDH), in der Propofol-Gruppe signifikant ausgeprägter war.

5.2.2 Enzymaktivitäten AST, ALT und GLDH

Die Enzymaktivitäten der Aspartat-Aminotransferase (AST), Alanin-Aminotransferase (ALT) und Glutamatdehydrogenase (GLDH) werden in der klinischen Praxis als Marker der hepatozellulären Schädigung bestimmt.

Während der operativen Versorgung thorako-abdominaler Aortenaneurysmen können aufgrund des unterbrochenen Blutflusses ischämische Endorganschäden an der Leber auftreten mit konsekutiver Enzymfreisetzung^{69,160}.

AST, ALT und GLDH stiegen in beiden Interventionsgruppen mit Beginn der Reperusionsphase an. Das Ausmaß der Enzymfreisetzung war jedoch in der Propofol-I/R-Gruppe deutlich ausgeprägter. Während für AST und ALT bereits ab der ersten postischämischen Stunde signifikante Unterschiede zwischen den Studienmedikationen bestanden, fand sich dieser für die GLDH am Ende des Versuches.

Dies spricht für einen protektiven Effekt von Sevofluran auf die hepatozelluläre Integrität.

Diese Beobachtung wird durch eine Untersuchung von Lørsomradee et al. gestützt. Von 320 Patienten, welche sich einer elektiven Operation der Koronararterien unterzogen haben, wurde eine Hälfte nach einem Sevofluran- und die andere Hälfte nach einem Propofol-basierten Protokoll anästhesiert. Der postoperative Aktivitätsanstieg der Enzyme AST und ALT war unter den Sevofluran-anästhesierten Patienten signifikant geringer¹²⁰.

Die Forschungsgruppe um Beck-Schimmer et al. führte erstmals eine Untersuchung am Menschen durch, bei der, im Rahmen von leberchirurgischen Eingriffen zur pharmakologischen Präkonditionierung, Sevofluran 30 Minuten vor Durchführung des Pringle-Manövers eingesetzt wurde¹⁶. Neben signifikant niedrigerer Transaminasenfreesetzung (AST und ALT) zeigte sich auch ein signifikant verbessertes klinisches Outcome im Vergleich zur durchgehend Propofol-anästhesierten Kontrollgruppe. Insbesondere die deutlich reduzierte Rate der gesamten Patientenmorbidity unterstreicht die Möglichkeit, dass der protektive Effekt durch Sevofluran nicht nur lokal, sondern auch auf entfernte Organe und eine systemische Inflammation Einfluss nehmen kann.

Ein vergleichbarer Effekt durch Propofol konnte auch gegenüber einem Placebopräparat nicht gezeigt werden. In einer tierexperimentellen Studie von Kim et al. nach partiellem hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden fand sich kein Unterschied in der Enzymfreesetzung (AST und ALT) zwischen Propofol-anästhesierten Ratten und einer Kontrollgruppe, welche Kochsalzlösung erhielt¹⁰².

Die AST ist sowohl im Zytoplasma als auch in den Mitochondrien lokalisiert und findet sich beim Schwein insbesondere im Herzmuskel, gefolgt von Leber, Niere, Skelettmuskel und Gehirn¹⁰³. Weiterhin wird die Aspartat-Aminotransferase auch während des intestinalen Ischämie-Reperfusionsschadens, insbesondere aus geschädigter Dün- und Dickdarmmukosa, freigesetzt²⁵.

Die ALT kommt primär im Zytoplasma vor und ist ein sensitiverer Marker hepatischen Gewebeschadens als die AST¹⁶⁰. Die Freisetzung beider Transaminasen korreliert mit dem Ausmaß des histologischen Schadens¹⁴⁴.

Es ist demnach davon auszugehen, dass in der vorliegenden Studie die weniger spezifischen Enzyme AST und ALT nicht nur aus der Leber, sondern auch aus Niere, Skelettmuskel und Darm freigesetzt wurden. Die GLDH hingegen ist ein leberspezifisches Enzym und intrazellulär in der Mitochondrienmatrix lokalisiert¹⁰³.

Die geringeren Enzymfreisetzungen von AST, ALT und GLDH lassen demnach auf eine weniger ausgeprägte Leberzellschädigung in der Sevofluran-I/R-Gruppe schließen. Ursächlich hierfür könnte eine bessere intrahepatische Sauerstoffversorgung sein. Zumindest für das Sauerstoffangebot über die Portalvene – abhängig von portalem Blutfluss und portalvenösem O₂-Gehalt – konnte in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass die Sevofluran-Tiere in der Lage waren, dieses während der Reperfusion signifikant zu steigern.

Ein weiterer Erklärungsansatz ist die tendenziell geringere hepatische Transmigration polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten in der Sevofluran-Gruppe und somit ein möglicherweise kleineres Schädigungspotential.

Es ist zu betonen, dass nach heutiger Kenntnis Sevofluran keine immunologisch vermittelten Leberschäden hervorruft, wie dies bei Anwendung der volatilen Anästhetika Isofluran, Desfluran oder Enfluran möglich ist¹²¹.

Insgesamt belegen die Enzymfreisetzungen von AST, ALT und insbesondere der leberspezifischen GLDH nicht nur die Schädigung der Leber im Rahmen des abdominalen Ischämie-Reperfusionsschadens, sondern deuten auch auf einen hepatoprotektiven Effekt durch Sevofluran hin.

5.2.3 Leberhistologie

Die am Versuchsende entnommenen Leberportionen wurden lichtmikroskopisch beurteilt und je nach Grad der Schädigung mit einem Punktwert von 0 bis 3 versehen.

Bei beiden Interventionsgruppen wurden in den histologischen Schnitten nekrotische Areale beobachtet. Ein Unterschied durch eine der beiden Studienmedikationen ließ sich nicht feststellen.

Die Entstehung von nekrotischen Leberzellen in der Reperfusionsphase ist überwiegend abhängig von der Güte der Mikrozirkulation³³. Bei insuffizienter Bereitstellung energiereicher Phosphate (ATP) können Nekrosen auftreten⁸⁶.

Bedirli et al. stellten einen organschützenden Effekt auf die Leber durch Sevofluran fest. In einem Rattenmodell mit 45-minütiger hepatischer Ischämiephase wurde nach zwei Stunden Reperfusion eine deutlich reduzierte Hepatozytendegeneration unter Sevofluran-Anästhesie im Vergleich zu Isofluran und zur Kontrollgruppe beobachtet¹⁷. Dies war begleitet von einer verbesserten hepatischen Gewebedurchblutung und höherem hepatischem ATP-Gehalt.

Das schwere Schadenmodells der vorliegenden Studie mit Ischämie über 90 Minuten und anschließender Schadensaggravierung in der Reperfusionsphase könnte jedoch eine feinere histologische Differenzierung unmöglich gemacht haben. Weiterhin ist es denkbar, dass die Sensitivität der angewandten histologischen Gradeinteilung, welche insgesamt vier Punktwerte unterschied, bei submaximalem Schaden zu gering gewesen könnte, um eine differenziertere Beurteilung zu zulassen. Zudem wurde lediglich auf das Vorliegen von Nekrose untersucht und nicht auf weitere histologische Marker einer Hepatozytenschädigung wie z.B. zytoplasmatische Vakuolenbildung, Kernpyknose, Verlust interzellulärer Grenzen oder Hämorrhagien.

Die Aussagekraft der Histologie einschränkend ist die Tatsache, dass auch bei den Versuchstieren ohne Okklusion ein vergleichbar ausgeprägter Schaden in der Histologie wie bei den Interventionsgruppen registriert wurde. Bei den Versuchstieren ohne Okklusion hat es sich nicht um eine „gesunde Kontrollgruppe“ gehandelt, sodass die aufwändige chirurgische Präparation und Manipulation zu einem Leberschaden geführt haben könnte. Dass dieser aber in einer ähnlichen Schadensklassifizierung wie in den Interventionsgruppen

resultiert, lässt vielmehr auf eine mangelnde Differenzierungsfähigkeit der histologischen Gradeinteilung schließen. Unterstrichen wird dies durch die sensitive und teils leberspezifische Bestimmung der Enzymfreisetzungen AST, ALT und GLDH. Hier ergaben sich bei den Versuchsgruppen ohne Okklusion im Versuchverlauf keine signifikanten Unterschiede.

Es ist anzumerken, dass in der vorliegenden Studie die Gewebeentnahme einmalig am Ende des Versuches erfolgte. Dies geschah, um die Leber während des Versuches keinen zusätzlichen Traumata auszusetzen, welche einen Einfluss auf weitere Messwerte ausüben könnten. Deshalb war kein Vergleich des histologischen Schadens zu unterschiedlichen Zeitpunkten möglich, insbesondere für die Zeiträume vor und nach Umstellung der Studienmedikation während der Reperfusionphase.

Die Histologie zur Beurteilung des nekrotischen Zelltodes in Leberschnitten ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Studienmedikationen. Die höhere Freisetzung hepatozellulärer Enzyme in der Propofol-Gruppe spricht für ein größeres Ausmaß hepatischen Zellunterganges als in der Sevofluran-Gruppe. Die in dieser Studie gewonnenen histologischen Ergebnisse bezüglich des Zelltodes zeigen sich hierzu aber nicht entsprechend kongruent. Da auch bei den Versuchstieren ohne Okklusion ein ähnlich ausgeprägter Schaden registriert wurde, obwohl es zu keiner erhöhten Enzymfreisetzung kam, ist die Sensitivität der angewandten Methode vermutlich zu gering und die Aussagekraft eingeschränkt.

Rückschlüsse auf einen eventuellen Protektionseffekt durch Sevofluran oder Propofol sind daher aus diesen Daten nicht zulässig.

5.2.4 Wet/Dry-Ratio

Als Maß für die Ausbildung eines Gewebeödems wurde das Verhältnis von Leberfeucht- zu Lebertrockengewicht (Wet/Dry-Ratio) gravimetrisch bestimmt. Die Gewebeentnahme erfolgte einmalig nach fünf Stunden Reperfusion am Ende des Versuches.

Der Vergleich der vier Versuchsgruppen ergab keine signifikanten Unterschiede.

Eine Erklärung hierfür könnte eine nur langsame Extravasation von Flüssigkeit sein. Takamatsu et al. konnten in einem partiellen hepatischen Ischämie-Reperfusionmodell bei Ratten nicht nach drei, sondern erst nach zwölf Stunden Reperfusion eine signifikante Zunahme der Wet/Dry-Ratio im Vergleich zu den Kontrolltieren feststellen¹⁷⁴.

In früher veröffentlichten Daten aus der hier diskutierten Studie konnten Annecke et al. zeigen, dass die Wet/Dry-Ratio von Dünndarmgewebe stabil blieb solange Sevofluran verabreicht wurde¹¹. Erst nach fünf Stunden Reperfusion und dem Wechsel auf Midazolam stieg das Dünndarmfeucht- zu Dünndarmtrockengewicht ebenfalls an. Bruegger et al. berichteten von einer geringeren Flüssigkeitsextravasation unter Sevofluran- als unter Propofol-Anästhesie bei Patienten, welche sich einer Brustoperation unterzogen hatten²². Es scheint möglich, dass Sevofluran einen stabileren Zusammenschluss der Gefäßendothelzellen bewirkt. Diese Beobachtungen ließen sich jedoch in der vorliegenden Studie für die Leber nicht statistisch bestätigen.

Aufgrund der einmaligen Gewebeentnahme ist keine Beurteilung einer möglichen Ödementwicklung im zeitlichen Verlauf möglich. Insbesondere im Hinblick auf die Umstellung der Studienmedikation zwei Stunden nach Reperfusionbeginn zurück auf Midazolam. Hierzu sind weitere Studien nötig.

Hinsichtlich der Ausbildung eines hepatischen Gewebeödems ergab sich kein Vorteil durch die Anwendung von Propofol oder Sevofluran. Limitierend für die Aufdeckung eines protektiven Effektes durch eine der beiden Studienmedikamente könnten eine zu kleine Fallzahl, ein zu kurzer Beobachtungszeitraum oder die fehlende Vergleichsmöglichkeit im Versuchsverlauf aufgrund der nur einmaligen Gewebeentnahme sein.

5.2.5 Granulozyteninfiltration

Nach einer Esterase-Färbung wurde die Einwanderung polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten (PMN) in die Leber lichtmikroskopisch quantifiziert. Die Entnahme des Lebergewebes wurde am Ende des Versuches durchgeführt.

Bei den Sevofluran-anästhesierten Tieren wurden in der Interventionsgruppe nicht mehr Leukozyten registriert als in der Versuchsgruppe ohne aortale Okklusion. Dagegen fanden sich in der Propofol-I/R-Gruppe tendenziell deutlich mehr sequestrierte Leukozyten als bei den Propofol-Tieren ohne Clampingmanöver ($p = 0,089$). Auch im direkten Vergleich der Interventionsgruppen zeigten sich in der Propofol-I/R-Gruppe tendenziell mehr transmigrierte PMNs.

Die bei Sevofluran verminderte Granulozyten-Endothelzellinteraktion deutet auf eine protektive Wirkung hin.

Unterstützt wird diese Hypothese auch von den Ergebnissen der Leukozytenzellzahlen im Blut. In der frühen Reperfusionphase fanden sich in der Propofol-I/R-Gruppe deutlich verringerte Leukozytenzellzahlen im Vergleich zu den Sevofluran-anästhesierten Tieren. Da beide Interventionsgruppen gleich viel Flüssigkeit infundiert bekamen, ist die unterschiedlich ausgeprägte Leukopenie nicht nur auf hämodiluirende Maßnahmen zurückzuführen. Die Abnahme der zirkulierenden weißen Blutkörperchen in der Propofol-Gruppe legt die Vermutung nahe, dass mehr Leukozyten das Gefäßbett verlassen haben und ins Gewebe sequestriert sind.

Die Adhäsion, Aktivierung, mikrovaskuläre Akkumulation und massive Migration polymorphkerniger Leukozyten (PMN) in postischämisches Gewebe tritt bekanntlich im Ischämie-Reperfusionsschaden auf und kann zur Schädigung entfernter Organe führen^{184,192}.

Khandoga et al. konnten im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden mittels intravitalmikroskopischer Darstellung die Adhäsion von Leukozyten in postsinusoidalen Venolen und Sinusoiden demonstrieren^{99,101}. Es ist denkbar, dass die intrasinusoidale Akkumulation von Leukozyten in der Leber den sinusoidalen Blutfluss mechanisch verschlechtern kann^{9,101}. Im Gegensatz dazu ergaben Studien von Vollmar et al., dass in

Sinusoiden stagnierende PMNs per se die sinusoidale Perfusion nicht beeinträchtigen^{183,185}. Schädigende Wirkung, die zum hepatozellulären Zelltod führen kann, entfalten die neutrophilen Granulozyten zusätzlich über die Sezernierung proteolytischer Enzyme (z.B. Elastase), die Produktion freier Sauerstoffradikale und Lipidperoxidation.

Jaeschke et al. induzierten bei Ratten durch Anwendung eines gegen Leukozyten gerichteten Antikörpers eine Neutropenie bevor ein hepatischer Ischämie-Reperfusionsschaden gesetzt wurde. Dadurch wurde eine Reduzierung eingewanderter PMNs um 84 % und ein Schutz gegen den Reperfusionsschaden erreicht⁸⁵. Kalb et al. beobachteten eine Verdopplung neutrophiler Granulozyten in Schnitten von Rattenlungen, die einer zweistündigen abdominalen Aortenokklusion ausgesetzt waren⁹². In der gleichen Studie konnte eine signifikante Reduzierung akkumulierter neutrophiler Leukozyten in den Lungenpräparaten durch eine 30-minütige Präkonditionierung mit Sevofluran 2% erreicht werden. Eine mögliche Erklärung könnten eine reduzierte Expression von Adhäsionsmolekülen sowie eine verminderte Mediatorfreisetzung sein. Beide Mechanismen konnten bei Anwendung volatiler Anästhetika demonstriert werden^{72,110,136}.

Für den Reperfusionsschaden mitverantwortlich ist die Freisetzung von Sauerstoffradikalen u.a. durch Kupfferzellen und aktivierte Leukozyten^{83,84,112,202}. Propofol ist u.a. ein Radikalfänger und inhibiert die Lipidperoxidation⁹¹. Akyol et al. bestimmten als Maß für Lipidperoxidation und damit für oxidativen Stress Malondialdehyd (MDA) in Plasma und Lungengewebe von Ratten, denen über vier Stunden ein Hinterlauf abgebunden war. Diejenigen Ratten, welche 50 mg kg⁻¹ Propofol eine Stunde vor Reperfusion verabreicht bekommen hatten, zeigten signifikant niedrigere MDA-Spiegel in Plasma und Lungengewebe⁶. Kim et al. wiesen nach partiellem hepatischem Ischämie-Reperfusionsschaden eine geringere Lipidperoxidation im Lebergewebe bei Propofol-Anwendung im Vergleich zur Kontrollgruppe nach¹⁰².

Als Ergebnis zeigt sich kein statistisch signifikanter Unterschied im Bezug auf die Granulozyteninfiltration in die Leber. Dennoch deuten die tendenziellen Ergebnisse – bei kleinem Stichprobenumfang dieser Studie – und der Vergleich mit den Ergebnissen anderer

Autoren auf ein protektives Potential von Sevofluran hin. Ursächlich scheint Sevofluran eher die Sequestration und damit die sich anschließende Aktivierung zirkulierender Leukozyten zu hemmen, wohingegen Propofol die Konzentration bereits entstandener freier Sauerstoffradikale verringert.

5.2.6 Hämodynamik und Sauerstofftransport

5.2.6.1 Systemische Hämodynamik und Sauerstofftransport

Die komplexen hämodynamischen Antworten des Organismus auf das vorübergehende Abklemmen der thorakalen Aorta und die anschließende Wiedereröffnung sind vielfach beschrieben und ließen sich im vorgestellten Tiermodell nachvollziehen⁶⁰.

Die plötzliche Druckerhöhung nach Abklemmen im proximalen Stromgebiet führt zu einem Anstieg von mittlerem arteriellem Blutdruck und systemischen Widerstand. Für das Verhalten des Herzzeitvolumens existieren gegensätzliche Studienergebnisse^{53,61}. So kann dieses abnehmen, ansteigen oder gleich bleiben. Distal der Aortenokklusion nimmt der aortale Blutdruck ebenso wie die Gewebepfusion rapide ab.

In der vorliegenden Untersuchung stieg der proximale arterielle Mitteldruck während der Ischämiephase in der Sevofluran-Gruppe signifikant stärker an, was insbesondere auf einen erhöhten Herzindex zurückzuführen war. Ursächlich hierfür könnte sein, dass halogenierte Kohlenwasserstoffe, wie Sevofluran, das Myokard gegenüber Katecholaminen sensibilisieren¹²¹. Letztere werden in Form von Adrenalin und Noradrenalin während eines aortalen Clampingmanövers vermehrt freigesetzt^{60,147}.

Gelman et al. beschrieben die Abhängigkeit des Blutflusses zu Organen distal der Aortenokklusion vom proximalen arteriellen Blutdruck bei Hunden⁶². Dies könnte sich durch einen effektiveren Kollateralkreislauf und somit verbesserter Gewebeoxygenierung als vorteilhaft für die Sevofluran-Tiere erwiesen haben. Jedoch wurde in beiden Interventionsgruppen während der Ischämiephase ein gegen Null tendierender Abfall sowohl des distalen Blutdruckes als auch des portalen Blutflusses beobachtet, so dass das Vorliegen eines relevanten Kollateralkreislaufes ausgeschlossen ist.

Mit Aufheben der thorakalen Aortenokklusion und Wiederherstellung der Durchblutung zuvor ischämischer Organe setzt die Reperfusionphase ein. Diese ist charakteristischerweise gekennzeichnet durch einen ausgeprägten Abfall von systemischen Blutdruck und Gefäßwiderstand.

In der vorliegenden Studie wurden die hämodynamischen Parameter gemäß einem zielwertorientierten Protokoll stabil gehalten. Die hierbei nötige Katecholaminsubstitution konnte in der Sevofluran-Gruppe signifikant reduziert werden, sowohl zu Beginn der Reperfusionphase als auch über die Zeit bis zum Versuchsende. Die geringere Kreislaufinstabilität der Sevofluran-anästhesierten Tiere deutete sich auch in einem moderateren Anstieg der Herzfrequenz an. Bei tendenziell ausgeprägter Vasoplegie stieg, zur Aufrechterhaltung eines adäquaten Herzzeitvolumens, die Herzfrequenz bei den Propofol-Tieren stärker an.

Eine Erklärung für die größere Kreislaufinstabilität der Propofol-Tiere könnte im größeren Gewebeschaden, erkennbar an der vermehrten Freisetzung intrazellulärer Enzyme aus geschädigten Zellen, liegen. Das Ausmaß des ischämischen Schadens unterhalb der Gefäßokklusion bestimmt die Bildung proinflammatorischer Mediatoren und anderer Stoffwechselmetaboliten. Hierzu zählen unter anderen TNF- α und Laktat^{55,122}. Durch die anschließende Reperfusion kommt es zur Einschwemmung dieser kardiodepressiven Metaboliten in den Kreislauf, welche eine myokardiale Dysfunktion bewirken können⁶⁰.

Die Anästhetika Sevofluran und Propofol können eine arterielle Hypotension bedingen^{34,42,49,80}. Anderson et al. zeigten bei einer FiO_2 von 1,0 sowohl für Sevofluran 2% als auch Propofol einen signifikanten Abfall des arteriellen Mitteldruckes¹⁰. Während die Ursache bei Sevofluran vorrangig in einer peripheren Vasodilatation und weniger in negativer Inotropie liegt¹²¹, sind bei Propofol mehrere Faktoren für den Blutdruckabfall verantwortlich. Hierzu zählen arterielle und venöse Vasodilatation, Verringerung der myokardialen Kontraktilität sowie die Unterdrückung zentraler kardiovaskulärer Regulatormechanismen^{29,194}. Aufgrund der geringen Blutlöslichkeit flutet Sevofluran nach Beendigung der Zufuhr sehr schnell über die Lunge ab⁷³.

Durch kontinuierliche Propofolinfusion kann eine Akkumulierung und nach Beendigung der Zufuhr eine Umverteilung stattfinden, welche die oben beschriebenen hypotensiven Wirkungen verlängern könnte^{7,139}. Die Pharmakokinetik von Propofol beinhaltet neben der hepatischen Clearance aber auch eine extrahepatische Metabolisierung, zum Beispiel in der Lunge (pulmonaler „First-pass“-Effekt). Die Propofol-Elimination ist deshalb bei Patienten mit Leber- oder Niereninsuffizienz wenig beeinträchtigt. Daher ist auch in der vorliegenden Studie davon auszugehen, dass die verminderte Leberleistung durch den abdominalen Ischämie-Reperfusionsschaden die Elimination nicht wesentlich beeinflusst hat.

Gesamtsauerstoffverbrauch und Gesamtsauerstoffextraktion nahmen während der Ischämiephase in beiden Interventionsgruppen vergleichbar ab und stiegen mit Beginn der Reperfusionsphase wieder auf Werte nahe den Basisdaten an. Der reduzierte Sauerstoffverbrauch während des Okklusionsmanövers ist auf eine verringerte Sauerstoffaufnahme des Gesamtorganismus bei Verminderung des perfundierten Gesamtvolumens zurückzuführen^{61,162}.

Es konnte gezeigt werden, dass hohe Propofoldosierungen ($30 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) die Sauerstoffextraktion im Gewebe reduzieren¹⁸². Jedoch wurde in der vorliegenden Studie eine deutlich geringere Dosierung gewählt ($10 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und im Zeitraum der verabreichten Studienmedikation auch kein Unterschied in der Gesamtsauerstoffextraktion festgestellt.

Der Hämoglobinwert bei den Tieren dieser Studie nahm im Versuchsverlauf im Sinne einer Hämodilution aufgrund des transfundierten Volumens kontinuierlich ab. Es bildete sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Interventionsgruppen heraus. Der Einfluss des Hämoglobinwertes auf Sauerstofftransport und Blutviskosität war also in beiden Gruppen gleichermaßen ausgeprägt.

Gegenwärtig liegen keine weiteren Studien vor, welche die protektiven Wirkungen von Sevofluran bzw. Propofol auf das Herz-Kreislauf-System im Modell der thorakalen Aortenokklusion und anschließenden Reperfusion untersucht haben.

Sevofluran erwies sich in diesem Tiermodell im Hinblick auf eine stabilere systemische Hämodynamik der Anwendung von Propofol überlegen.

5.2.6.2 Leberperfusion und portalvenöser Sauerstofftransport

Das Sauerstoffangebot für ein einzelnes Organ hängt von der jeweiligen Durchblutung und dem Sauerstoffgehalt des zuführenden Gefäßes ab. In der vorliegenden Studie wurde das Sauerstoffangebot an die Leber über die Portalvene untersucht (DO_{2port}).

In beiden Interventionsgruppen kam es während der 90-minütigen Aortenokklusion zu einem Abfall des portalen Blutflusses gegen Null. Dies spiegelte die abdominale Ischämie des Tiermodells wieder. Es lag somit auch kein messbarer effektiver Kollateralkreislauf vor. Gleichmaßen sank die DO_{2port} erwartungsgemäß während der Ischämiephase rapide ab.

Unmittelbar nach Einsetzen der Reperfusion wurden der portale Blutfluss wie auch das Herzzeitvolumen im Sinne einer reaktiven Hyperämie enorm gesteigert und der prozentuale Anteil des portalen Blutflusses am Herzindex fand sich nahe den Ausgangswerten. Dadurch erholte sich auch die DO_{2port} und lag wieder im Bereich der Basiswerte. Dies war auf die gesteigerte Pfortaderperfusion zurückzuführen und nicht auf eine Erhöhung des portalvenösen Sauerstoffgehaltes. Auch im weiteren Verlauf der Reperfusion stellte sich hinsichtlich portalvenösem Fluss und O_2 -Angebot kein Unterschied zwischen den Interventionsgruppen ein. Darüber hinaus bestand zu keinem äquivalenten Zeitpunkt der Reperusionsphase ein Unterschied zwischen einer Interventions- und ihrer entsprechenden Gruppe, der nicht-okkludierten Tiere.

Aus der relativ stabilen Leberdurchblutung und DO_{2port} in der Postischämiephase kann aber nicht zwingend auf eine adäquate zelluläre Sauerstoffversorgung geschlossen werden. Zum einen könnte die hepatisch-arterielle Durchblutung entsprechend gedrosselt worden sein, und zum anderen ist von hepatischen Verteilungsstörungen auszugehen^{9,129}. Mikrozykulationsstörungen und das No-Reflow-Phänomen sind gut dokumentierte Besonderheiten des hepatischen Ischämie-Reperusionschadens^{97,107}.

Ein effektiver Regulationsmechanismus zur Konstanthaltung der Leberdurchblutung, welcher auch bei Schweinen nachgewiesen wurde, ist die von Lautt beschriebene hyperämische Antwort oder „Hepatic Arterial Buffer Response“^{13,114,115}. Hierbei reagiert die Arteria hepatica auf einen verringerten Pfortaderblutfluß mit kompensatorischem Anstieg des Blutflusses, und vice versa. Von diesem Mechanismus wird vermutet, dass er durch die Infusion von Propofol bereits unter Normalbedingungen blockiert wird²⁰¹.

Bedirli et al. konnten im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden eine sofortige und vollständige Erholung der hepatischen Gewebedurchblutung bei Sevofluran-, nicht aber bei Isofluran-anästhesierten Ratten demonstrieren¹⁷. Dieser protektive Effekt wurde bei Inhalation von Sevofluran 2%, was etwa einem MAC von 1.0 entspricht, beobachtet. Die Konzentration von Sevofluran 2% endtidal wurde auch in der hier durchgeführten Studie eingesetzt.

Die Anwendung von Anästhetika kann den hepatischen Sauerstofftransport beeinflussen. Tierstudien an Kaninchen und Ratten belegten, dass unter Propofol-Anästhesie der Sauerstoffverbrauch der Leber erhöht wird^{29,201}. Die hepatische O₂-Bilanz blieb jedoch unbeeinflusst, da gleichzeitig das Sauerstoffangebot an die Leber erhöht wurde. Dennoch lässt sich spekulieren, ob diese Balance im Modell des schweren Ischämie-Reperfusionsschaden erhalten werden kann. Der erhöhte Sauerstoffverbrauch unter Propofol-Anästhesie spiegelt die verstärkte metabolische Aktivität während der Propofolelimination wieder²⁰¹.

Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen von Frink et al. an Hunden zeigten, dass Sevofluran bei einem MAC-Wert von 1.0 und 1.5 das Sauerstoffangebot an die Leber aufrechterhalten kann⁵⁸. Erst bei einer Konzentration von 2.0 kam es zu einer Verringerung des Verhältnisses von Sauerstoffangebot zu Sauerstoffverbrauch.

Der portalvenöse Sauerstoffgehalt (CpvO₂) lag zu den äquivalenten Zeitpunkten der Reperusionsphase in beiden Versuchsgruppen ohne Okklusion über dem CpvO₂ der Interventionsgruppen.

Um den Einfluss intestinaler Ischämie-Reperfusion auf Sauerstoffangebot und -verbrauch der Leber zu untersuchen induzierten Poggetti et al. in einer tierexperimentellen Studie an Ratten eine 45-minütige intestinale Ischämie. In der anschließenden Reperfusionsphase änderten sich hepatisches Sauerstoffangebot und -verbrauch jedoch nicht¹⁵⁴. Turnage et al. zeigten hingegen, dass nach 120-minütiger intestinaler Ischämie durch Abklemmen der Arteria mesenterica superior die Rattenleber während der Reperfusionsphase hypoperfundiert wurde. Dabei verminderte sich neben dem portalvenösen auch der hepatisch-arterielle Fluss im Vergleich zu den Kontrollen signifikant¹⁸¹. Die Ursache für die hepatische Hypoperfusion durch einen intestinalen Ischämie-Reperfusionsschaden ist nicht geklärt. Vermutet wird ein Zusammenhang mit dem Verlust intravasalen Volumens durch Endothelschädigung aufgrund der schweren Darmischämie¹⁸¹. In der vorliegenden Studie lässt sich eine portalvenöse Hypoperfusion als Folge der intestinalen Ischämie nicht bestätigen. Dies könnte auf die Verabreichung großer Volumenmengen gemäß dem zielwertorientierten Protokoll zurückzuführen sein.

Loscar und Conzen wiesen darauf hin, dass volatile Anästhetika dosisabhängig die Leberdurchblutung verringern, indem sie den Perfusionsdruck im Splanchnikusstromgebiet reuzieren¹²¹. Sevofluran im Speziellen hält jedoch den hepatischen Blutfluss bei einem MAC-Wert kleiner 2 stabil⁵⁷. Wouters et al. belegten in ihrer Studie mit Sevofluran-anesthetisierten Hunden, dass bei einer minimal alveolären Konzentration von 1.2 der portalvenöse Fluss signifikant abfällt. Im Gegenzug stieg jedoch der hepatisch-arterielle Blutfluss entsprechend an, so dass die Lebergesamtdurchblutung unverändert blieb¹⁹³. In zwei weiteren Experimenten konnten für einen MAC-Wert von 1.0 bei Hunden und 0.7 bei Ratten keine Veränderungen der Leberdurchblutung nachgewiesen werden^{41,58}. Damit übereinstimmend ergaben sich in der vorliegenden Studie bei den Versuchsgruppen, die der aortalen Okklusion nicht ausgesetzt waren, keine Veränderungen des Anteils der portalen Leberperfusion am Herzindex während der gesamten Versuchsdauer.

Für den Einfluss von Propofol auf die Leberdurchblutung existieren widersprüchliche Daten. Der totale hepatische Blutfluss kann ansteigen, gleich bleiben oder abfallen²⁰¹.

Inwieweit der in diesem Tiermodell durchgeführte operative Zweihöhleneingriff und die chirurgische Manipulation den portalen Blutfluss zusätzlich beeinflusst haben könnten, lässt sich nicht exakt quantifizieren. Gelman beschrieb eine Reduzierung der Leberdurchblutung im Zusammenhang mit abdominalchirurgischen Eingriffen am Menschen⁶³. Weiterhin reduziert sich der hepatische Blutfluss zusätzlich bei maschinellen Beatmungsformen mit Aufwendung eines positiven Drucks⁵⁸. Da alle Versuchsgruppen in der gleichen Art präpariert wurden, können diese Umstände für den Vergleich untereinander vernachlässigt werden. Es ist aber nicht auszuschließen, dass die umfangreichen operativen und anästhesiologischen Maßnahmen in diesem Tierexperiment zur Leberschädigung beigetragen haben.

Es ist zu betonen, dass in der vorliegenden Studie nur der Blutfluss und das Sauerstoffangebot an die Leber über die V. portae untersucht wurden. Das O₂-Angebot über die Arteria hepatica ist ebenso wie der O₂-Gehalt der Lebervene nicht gemessen worden, wodurch auch eine Berechnung der hepatischen Sauerstoffausschöpfung nicht möglich war. Dies schränkt die Aussagekraft bezüglich Sauerstoffangebot bzw. -verbrauch ein.

Es lässt sich keine Aussage darüber treffen, ob die Lebergesamtdurchblutung während des Experimentes gleich geblieben ist, sich verringert oder erhöht hat. Nichtsdestotrotz wäre es auch bei Kenntnis der quantitativen Lebergesamtdurchblutung aufgrund des No-Reflow-Phänomens und hepatischer Mikrozirkulationsstörung nicht zulässig auf eine gleichmäßige Gewebedurchblutung zu schließen^{128,130}. Messmer und Menger konnten zeigen, dass die Mikrozirkulation der Leber im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden in Mitleidenschaft gezogen wird^{127,131}. Die postischämische Perfusionsstörung ist nicht nur ein Schlüsselereignis in der Entwicklung des hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens¹⁵⁶, sondern ist zudem assoziiert mit der Beeinträchtigung von Gewebeoxygenierung, Zellintegrität und Funktion¹⁸³.

Nach Auswertung der gewonnenen Daten lässt sich kein Vorteil einer Studienmedikation auf die portalvenöse Leberperfusion und das Sauerstoffangebot im Modell der abdominalen Ischämie und Reperfusion ableiten. Aufgrund der umgehenden Erholung auf präischämische Werte zu Reperfusionbeginn, der Konstanzhaltung bis zum Ende des Versuches auf Niveau der nicht-okkludierten Tiere, lässt sich aber schließen, dass die Leber in beiden Interventionsgruppen jeweils ausreichend perfundiert worden ist. Der Mechanismus,

welcher den hepatoprotektiven Effekt, erkennbar an der geringeren Transaminasenfreesetzung und der Leukozytendiapedese, in der Sevofluran-Gruppe vermittelt, ist daher vermutlich nicht durch eine unterschiedliche Blutversorgung der Leber zu erklären. Dies deckt sich mit den Untersuchungen anderer Autoren, die eine erhöhte Expression der induzierbaren Stickoxid-Synthase¹⁶, einen verbesserten mikrozirkulatorischen Blutfluss¹³⁵ oder einen Einfluss auf die Leukozyten-Endothelzell-Interaktion durch volatile Anästhetika zeigen konnten^{72,110}.

Zur Klärung dieser mechanistischen Faktoren sind weitere Studien notwendig.

5.2.7 Laktatkonzentration und Enzymaktivität LDH

Als Ausdruck der induzierten Sauerstoffunterversorgung und des konsekutiven anaeroben Stoffwechsels in der 90-minütigen Ischämiephase gefolgt von der Reperfusion stieg die Laktatkonzentration im Blut drastisch an. Die Laktatkonzentration erreichte ihr Maximum in beiden Interventionsgruppen innerhalb der ersten zwei Stunden der Reperfusion. In der Sevofluran-I/R-Gruppe begann die Laktatkonzentration gegen Ende des Versuches abzusinken, wohingegen sie in der Propofol-I/R-Gruppe unverändert hoch blieb ($p < 0.05$).

Laktat wird vornehmlich durch Leber und Nieren genutzt¹¹¹. Im Rahmen von Lebertransplantationen stellt die hepatische Laktatclearance einen sensitiven Indikator der Transplantatfunktion dar¹⁵⁹. Eine Erklärung für die konstant hohen Laktatkonzentrationen unter den Propofol-Tieren könnte eine weniger effiziente Laktatutilisation sein. Carles et al. berichteten, dass die Anwendung von Sevofluran vor Einsetzen eines Ischämie-Reperfusionsschadens des Skelettmuskels beim Menschen einen optimierten Energiemetabolismus bedingte, wohingegen Propofol diesen verschlechterte²⁸. Es wird vermutet, dass Propofol in die mitochondriale Atmungskette eingreift und eine Entkoppelung der oxidativen Phosphorylierung bewirkt mit der möglichen Folge einer ungenügenden Energiebereitstellung³. Somit könnte eine weitere Erklärung für den unverändert hohen Laktatspiegel in der Propofol-Gruppe auch auf einen persistierenden anaeroben Stoffwechsel zurückzuführen sein.

Gestiegene Laktatkonzentrationen spiegeln den anaeroben Stoffwechsels im Rahmen des Ischämie-Reperfusionsschadens wieder. Darüber hinaus ist die Laktatutilisation auch als Funktionsleistung der Leber einzuordnen. Somit zeigt die verbesserte Laktatclearance gegen Ende des Versuches in der S-I/R-Gruppe einen protektiven Effekt durch Sevofluran an.

Die Enzymaktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) im Serum stieg im Laufe der Reperfusion deutlich an. Im Vergleich zur Sevofluran-Gruppe war dieser Anstieg jedoch unter den Propofol-Tieren signifikant größer. Die Laktatdehydrogenase ist im Zytoplasma verschiedener Zellen zu finden und lässt sich beim Menschen wie auch beim Schwein in fünf Isoenzyme unterteilen, die in jeweils verschiedenen Organen vorherrschend sind^{108,155}. Die Gesamt-LDH kann demnach als ein nicht-spezifischer Indikator eines allgemeinen Gewebeschadens angesehen werden¹. Die signifikant verminderte Enzymfreisetzung in der S-I/R-Gruppe deutet auf einen protektiven Effekt von Sevofluran hin.

5.2.8 Apoptosemarker

Hepatische Ischämie und Reperfusion führen zu Zelltod im Lebergewebe, insbesondere von Hepatozyten und sinusoidalen Endothelzellen. Obwohl auch die ischämische Belastung schlussendlich zum Zelluntergang führt, manifestiert sich der Zellschaden meist erst mit Reperfusion der ischämischen Leber⁸⁶. Dies ist entscheidend, da davon auszugehen ist, dass während der Ischämiephase kein Studienmedikament die Leber erreichen kann und ein Effekt auf den Zelltod somit auch in der Reperusionsphase möglich ist.

Der dominante Mechanismus des Zelltodes, ob Nekrose oder Apoptose, ist im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden nicht eindeutig geklärt^{81,124}. Sowohl der Caspase-abhängige programmierte apoptotische Zelltod wie auch die durch ATP-Depletion bedingte onkotische Nekrose wurden in unterschiedlicher Gewichtung beobachtet^{67,86,104}. Lemasters wies auf die Möglichkeit hin, dass der Prozess des Zelltodes mit einem gemeinsamen Signalweg beginnen könnte, welcher abhängig von den Umständen schlussendlich entweder in Nekrose oder Apoptose mündet, und führte dafür den Begriff „Nekrapoptose“ ein¹¹⁸.

Unter unphysiologischen Bedingungen können beide Arten des Zelltodes die Folge des gleichen schädigenden Ereignisses sein. Die Balance zwischen Apoptose und Nekrose scheint abhängig vom intrazellulär verfügbaren ATP-Gehalt zu sein¹⁴³.

Charakteristischerweise werden beim klassischen apoptotischen Zelltod keine intrazellulären Bestandteile frei und dadurch keine inflammatorische Antwort, welche den Ischämie-Reperfusionsschaden verstärkt, in Gang gesetzt⁸⁶. Jedoch ist auch ein Abbruch des apoptotischen Vorganges und ein Wechsel zur sekundären Nekrose möglich⁸¹.

Während es bei der Nekrose unter anderem zur Zellschwellung kommt, führt die Apoptose morphologisch zu Zellschrumpfung, Kernkondensation, zur Chromatinverlagerung zur Kernmembran (Margination) und zu Apoptosekörperchen.

Der Zelluntergang über Apoptose ist dadurch gekennzeichnet, dass die Desoxyribonukleinsäure (DNA) jeweils zwischen den einzelnen Nukleosomen in Fragmente von 185 – 200 Basenpaaren oder einem ganzzahligen Mehrfachen davon gespalten wird¹⁴⁹. Diese definierten Stücke sind als DNA-Leiter bekannt und ermöglichen die Anfärbung apoptotischer Zellen mittels der TUNEL-Methode.

Eine Schlüsselstellung im Vorgang der Apoptose nehmen die Caspasen ein³⁶. Es handelt sich hierbei um Proteasen, welche schlussendlich die für die DNA-Fragmentierung verantwortliche Endonuklease aktivieren⁵².

In der vorliegenden Studie wurden als Marker der Apoptose die TUNEL-Methode sowie die Messung der Caspase-3-Aktivität im Lebergewebe eingesetzt.

5.2.8.1 TUNEL-Färbung

In der Propofol-I/R-Gruppe wurden mehr als doppelt so viele TUNEL-positive Zellen im Leberschnitt registriert wie bei den Propofol-anästhesierten Tieren, bei denen kein aortales Clampingmanöver durchgeführt wurde. Dagegen konnte unter den Sevofluran-anästhesierten Tieren keine signifikante Zunahme TUNEL-positiver Zellen durch den Ischämie-Reperfusionsschaden festgestellt werden.

Da bei der histopathologischen Leberschnittuntersuchung in den Interventionsgruppen gleichermaßen ausgeprägte nekrotische Areale erkannt wurden, lässt sich nun in Zusammenschau mit den Ergebnissen der TUNEL-Methode vermuten, dass es in der Propofol-I/R-Gruppe zudem noch zu einem ausgeprägten apoptotischen Zelltod gekommen ist.

Sevofluran scheint demnach eine Induzierung des apoptotischen Zellunterganges im abdominalen Ischämie-Reperfusionsschaden zu unterdrücken. Dies ist nicht zwangsläufig mit einem Vorteil durch Sevofluran gleichzusetzen, da die geschädigten Zellen zum alternativen Weg der Nekrose gedrängt worden sein könnten mit Freisetzung intrazellulärer Bestandteile und konsekutiver Entzündungsreaktion. Vielmehr könnte es unter den Propofol-anästhesierten Tieren zu einem besser regulierten Zelluntergang gekommen sein. Dem widerspricht jedoch die deutlich erhöhte Enzymfreisetzung (AST, ALT, GLDH) in der Propofol-I/R-Gruppe gegenüber den Sevofluran-I/R-Tieren.

Es ist zu betonen, dass Sensitivität und insbesondere Spezifität der TUNEL-Methode für die Darstellung apoptotischer Zellen kritisch betrachtet werden¹¹³. So konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass durch die TUNEL-Färbung nicht nur apoptotische, sondern auch nekrotische Zellen markiert werden^{65,67,82,199}. Dies liegt daran, dass auch Nekrose zu DNA-Strangbrüchen führt, welche durch die TUNEL-Methode angefärbt werden^{126,175}.

Als Goldstandard zur Identifikation apoptotischer Zellen gelten morphologische Kriterien, wie Zellschrumpfung, Chromatinkondensation, Margination und Apoptosekörperchen⁸⁶. Bei alleiniger Beurteilung der vorherrschenden Art des Zelltodes anhand morphologischer Kriterien konnten Gurjal et al. zeigen, dass nur weniger als 2 % der sinusoidalen Endothelzellen und Hepatozyten über den Mechanismus der Apoptose untergehen⁶⁷.

Aufgrund der limitierten Sensitivität der TUNEL-Methode lässt sich anhand der Ergebnisse nicht folgern, ob der Zelluntergang über den Mechanismus der Apoptose ausgeprägt ist. Ganz allgemein lässt sich jedoch durch die Quantifizierung TUNEL-positiver Zellen auf einen hepatozellulären Zelluntergang schließen, unabhängig davon ob dieser durch Apoptose oder Nekrose zustande gekommen ist. Dieser Zellschaden hat demnach unter den Propofol- im Gegensatz zu den Sevofluran-anästhesierten Tieren signifikant stärker zugenommen. Die

Korrelation mit der stärkeren Enzymfreisetzung in der Propofol-I/R-Gruppe unterstützt diese Beobachtung.

5.2.8.2 Caspase-3-Assay

Die Aktivität des spezifischen Apoptose-Induktors Caspase-3 stieg in keiner der beiden Interventionsgruppen im Vergleich zu den Versuchstieren ohne Okklusion signifikant an. Dies unterstreicht die Vermutung verschiedener Autoren, dass der dominante Mechanismus des hepatischen Zelltodes im Ischämie-Reperfusionsschaden insbesondere auf Nekrose und weniger auf Apoptose beruht^{67,81,82,86,126,127,128}. Dies zeigt sich auch darin, dass der Schutz durch potente Pancaspase-Inhibitoren nur gering ausfällt^{67,86}.

Somit bestärkt dies die These, dass der signifikante Anstieg TUNEL-positiver Zellen in der Propofol-I/R-Gruppe aufgrund der geringen Trennschärfe der Methode auf das Vorliegen nekrotischen Zelltodes zurückzuführen ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie deuten darauf hin, dass der hepatozelluläre Zelltod im abdominalen Ischämie- und Reperfusionsschadens durch Nekrose ausgeprägter ist als durch Apoptose. Dies begründet sich einerseits in der fehlenden signifikanten Zunahme des Apoptose-Induktors Caspase-3 und andererseits in der Tatsache, dass der Anstieg TUNEL-positiver Zellen auch auf Nekrose zurückgeführt werden kann.

Sevofluran scheint demnach Propofol in der Verhinderung des hepatozellulären Zelltodes überlegen zu sein. Dies drückt sich auch in der niedrigeren Enzymfreisetzung (AST, ALT und GLDH) und einer besseren Laktatclearance in der Sevofluran-Gruppe aus.

5.3 Diskussion des Studiendesigns und Versuchprotokolls

Ziel der vorliegenden in-vivo Studie war es, die klinische Situation eines ausgedehnten Eingriffes an der thorakalen Aorta nachzuahmen. Hierzu wurde ein Großtiermodell ausgewählt, welches eine Sternotomie, Laparotomie sowie die Präparation größerer Gefäße notwendig machte. Die operativen Interventionen könnten die Ergebnisse der vorliegenden

Studie beeinflusst haben. Jedoch konnte mithilfe der Versuchstiere ohne Okklusion gezeigt werden, dass die chirurgische Präparation allein gut toleriert wurde. Insbesondere zeigten diese Tiere keine Anzeichen hämodynamischer Instabilität oder einer Laktatazidose.

Als Versuchstiere wurden Schweine einer Rasse (Deutsche Landrasse) ausgewählt. Dies erfolgte aufgrund ihrer Ähnlichkeit zum menschlichen Organismus hinsichtlich der geringen intestinalen Xanthinoxidase-Konzentration⁸⁸, der antioxidativen Kapazität des Gewebes und der Anfälligkeit gegenüber oxidativem Stress¹⁶⁸.

Hervorzuheben ist, dass die Auswirkungen auf die Leber in der hier durchgeführten Studie nicht isoliert einen hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden widerspiegeln. Die Leber stellt vielmehr ein primär und sekundär betroffenes Organ im Rahmen des abdominoviszeralen Ischämie und Reperfusionsschadens. Insbesondere wird die Leber sekundär durch den intestinalen Ischämie-Reperfusionsschaden schwer beeinträchtigt. Die intestinale Reperfusion verursacht einen akuten hepatischen Schaden, welcher gekennzeichnet ist durch hepatozelluläre Enzymfreisetzung, reduzierten Gallefluss und metabolische Dysfunktion¹⁸¹. Zudem bedingt der intestinale Ischämie-Reperfusionsschaden eine hepatische Hypoperfusion¹⁸¹. Weiterhin kommt es zur Leukozyten-Akkumulation in der Leber⁷⁵, welche den oxidativen Stress verstärkt und zur hepatozellulären Schädigung führt⁷⁴.

In der vorliegenden Studie wurden nur die ersten fünf Stunden der Reperfusionsphase untersucht. Somit lassen sich keine Aussagen zu Langzeitauswirkungen treffen.

Die Verabreichung der Studienmedikation erfolgte gemäß einem bestimmten Schema. Die Applikation von Sevofluran und Propofol wurde jeweils 60 Minuten vor Ischämie begonnen und bis 120 Minuten Reperfusion fortgesetzt. Danach wurde die Zufuhr der Studienmedikation beendet und auf Midazolam umgestellt. Dieses Verabreichungsschema der Studienmedikation sollte der klinische Situation nahe kommen, bei der das primäre

Anästhetikum während des operativen Eingriffs unverändert bleibt, aber nach Eintreffen auf der Intensivstation gewechselt wird.

Es ist zu bedenken, dass die Effekte volatiler Anästhetika auf Blutfluss und Oxygenierung dosisabhängig sind⁵⁸. In der vorliegenden Studie wurde eine Sevofluran-Konzentration gewählt, die beim Menschen etwa einem MAC-Wert von 1.0 entspricht und für welche vorteilhafte Effekte gezeigt werden konnten^{40,110}. Für die Ermittlung des optimalen MAC-Wertes von Sevofluran beim Menschen sind weitere Studien notwendig.

Die Biotransformationsrate von Sevofluran liegt bei 3–5 % und führt zur Bildung von Hexafluoroisopropanol und anorganischem Fluorid¹⁷². Es entsteht somit nicht die bei der Metabolisierung anderer volatiler Anästhetika gebildete Trifluoressigsäure, welche potentiell zur Leberschädigung führen können¹²¹. Demnach ist das hepatotoxische Potential von Sevofluran als sehr gering einzustufen⁵⁷. Zusätzlich ist zu betonen, dass in der vorliegenden Studie kein CO₂-Absorber eingesetzt wurde, da im angewandten offenen Beatmungssystem keine Rückatmung stattgefunden hat. Dadurch war die Bildung eines als Compound A bezeichneten Haloalkens, welches reno- und hepatotoxisch wirken kann⁵¹, nicht möglich.

Interessanterweise sind auch für Fentanyl und Midazolam protektive Wirkungen beschrieben worden. Nagano et al. zeigten einen verbesserten mittleren aortalen Blutdruck ebenso wie eine erhöhte Laktataufnahme durch die Leber bei Anwendung von Fentanyl im Vergleich zu Enfluran und Pentobarbital im hepatischen Ischämie-Reperfusionsschaden¹⁴¹. Weiterhin konnte für Fentanyl ein protektiver Effekt auf isolierte Zellen durch die Aktivierung ATP-abhängiger Kaliumkanäle gezeigt werden¹⁹⁷. Midazolam scheint die Adhäsion von Leukozyten in der Postischämiephase reduzieren zu können¹⁰⁵.

Zusätzliche Einflüsse durch weitere Medikamente sind also nicht ausgeschlossen. Jedoch wurden bei allen Tieren sämtliche Substanzen in vergleichbaren Dosierungen verabreicht, so dass die Aussagekraft der in dieser Studie diskutierten Ergebnisse nicht eingeschränkt wird.

5.4 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse dieser randomisierten tierexperimentellen Studie bestätigen die eingangs formulierte Alternativhypothese, dass die Anwendung von Sevofluran der von Propofol bezüglich der Verringerung des hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens im Modell der schweren abdominalen Ischämie und Reperfusion, induziert durch temporäre thorakale Aortenokklusion, überlegen ist.

6 Zusammenfassung

Der abdominale Ischämie-Reperfusionsschaden nach thorakaler Aortenokklusion, beispielsweise im Rahmen der operativen Versorgung thorakoabdominaler Aortenaneurysmen oder –dissektionen, stellt ein relevantes klinisches Problem dar. Die hohe Mortalität ist auch durch gastrointestinale Komplikationen sowie hepatische Dysfunktion und Leberversagen bedingt.

Für das Herz ist ein Protektionseffekt durch volatile Anästhetika gegenüber einem Ischämie-Reperfusionsschaden gut dokumentiert. Aber auch für andere Organe, wie der Leber, mehren sich die Hinweise auf eine schützende Wirkung.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu prüfen, ob im Modell des schweren abdominalen Ischämie-Reperfusionsschadens durch Aortenokklusion bei Verwendung von Sevofluran im Vergleich zu Propofol ein protektiver Einfluss auf die Leber erreicht werden kann.

In einem standardisierten Großtiermodell am Hausschwein wurde durch Entfaltung eines Ballons in der thorakalen Aorta eine 90-minütige Ischämie gefolgt von fünf Stunden Reperfusion induziert. Entsprechend der Randomisierung erhielten die Versuchstiere 60 Minuten vor, während und bis 120 Minuten nach Ischämie entweder Sevofluran oder Propofol zur Aufrechterhaltung der Narkose.

Neben Parametern, die Kreislauf und Sauerstofftransport erfassen, wurden im Serum die Enzymaktivitäten von Laktatdehydrogenase (LDH), Aspartat-Aminotransferase (AST), Alanin-Aminotransferase (ALT) und Glutamatdehydrogenase (GLDH) gemessen. Der Gallefluss, gemessen über eine Kanülierung des Gallenganges, und die Laktatkonzentration bzw. deren Utilisation wurden als Parameter der Leberfunktion sowie als Indikator des hepatischen Ischämie-Reperfusionsschadens herangezogen. Weiterhin wurden aus der Leber entnommene Gewebeschnitte hinsichtlich pathologischer Veränderungen, Wet/Dry-Ratio und der Infiltration polymorphkerniger Granulozyten (PMN) analysiert. Zudem wurden die Aktivität des Apoptoseinduktors Caspase-3 und die Anzahl TUNEL-positiver Zellen im Lebergewebe bestimmt.

Die Versuchstiere beider Interventionsgruppen erlitten einen schweren abdominalen Ischämie-Reperfusionsschaden. Während alle Tiere der Propofol-Gruppe derart

hämodynamisch instabil waren, dass sie bis zum Ende des Versuches katecholaminabhängig blieben, konnte bei vier der neun Tiere aus der Sevofluran-Gruppe die Katecholaminzufuhr während des Versuchszeitraumes gestoppt werden. Somit deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass Sevofluran nach thorakaler Aortenokklusion eine stabilisierende Wirkung auf die Hämodynamik ausübt.

Weiterhin fand sich in der Propofol-Gruppe im Vergleich zu den Sevofluran-Tieren eine deutlich erhöhte Aktivität der Laktatdehydrogenase im Serum, als Ausdruck des generalisierten Schadens.

Als Marker der lokalen Schädigung der Leber wurden die Aktivitäten der Enzyme AST, ALT und insbesondere der leberspezifischen GLDH im Serum gemessen, welche in der Propofol-Gruppe signifikant stärker freigesetzt wurden. Es konnte somit ein schützender Effekt auf die hepatozelluläre Integrität durch Sevofluran gezeigt werden. Im Verlauf der Reperfusionssphase stellte sich in der Sevofluran-Gruppe, nicht jedoch unter den Propofol-anästhesierten Tieren eine abnehmende Laktatkonzentration ein, welche als hepatische Utilisationsleistung und damit als verbesserte Leberfunktion interpretiert werden kann.

Die beobachtete Tendenz der vermehrten Infiltration polymorphkerniger Granulozyten in das Lebergewebe der Propofol-Gruppe könnte eine Erklärung für den ausgeprägteren Schaden sein. Unterschiede in der portalvenösen Leberperfusion oder des Sauerstoffangebotes lagen nicht vor.

Insgesamt liefern die Ergebnisse der vorliegenden Studie im Sinne der Alternativhypothese Hinweise auf einen protektiven Effekt von Sevofluran im abdominalen Ischämie-Reperfusionsschaden in Bezug auf hepatozelluläre Integrität, Leberfunktion und Gewebeschaden.

Es ist daher gerechtfertigt weitere Studien durchzuführen, um die experimentell belegten Effekte und erkennbaren Tendenzen einzelner Parameter mit dem Ziel der Anwendung in der klinischen Praxis und der Entschlüsselung der zu Grunde liegenden Mechanismen weiter herauszuarbeiten.

7 Literaturverzeichnis

- 1 Abrahao, M. S., E. F. Montero, V. B. Junqueira, L. Giavarotti, Y. Juliano and D. J. Fagundes (2004). *Biochemical and morphological evaluation of ischemia-reperfusion injury in rat small bowel modulated by ischemic preconditioning*. *Transplant Proc* **36**(4): 860-2.
- 2 Accatino, L., M. Pizarro, N. Solis, M. Arrese and C. S. Koenig (2003). *Bile secretory function after warm hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat*. *Liver Transpl* **9**(11): 1199-210.
- 3 Acco, A., J. F. Comar and A. Bracht (2004). *Metabolic effects of propofol in the isolated perfused rat liver*. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **95**(4): 166-74.
- 4 Achouh, P. E., K. Madsen, C. C. Miller, 3rd, A. L. Estrera, A. Azizzadeh, J. Dhareshwar, E. Porat and H. J. Safi (2006). *Gastrointestinal complications after descending thoracic and thoracoabdominal aortic repairs: a 14-year experience*. *J Vasc Surg* **44**(3): 442-6.
- 5 Ajamieh, H. H., E. Candelario-Jalil, O. S. Fernandez and A. L. Gerbes (2008). *Ischaemic and pharmacological preconditionings protect liver via adenosine and redox status following hepatic ischaemia/reperfusion in rats*. *Clin Sci (Lond)* **115**(2): 69-77.
- 6 Akyol, A., H. Ulusoy, M. Imamoglu, A. Cay, E. Yulug, A. Alver, E. Erturk, M. Kosucu, A. Besir, A. Akyol and I. Ozen (2006). *Does propofol or caffeic acid phenethyl ester prevent lung injury after hindlimb ischaemia-reperfusion in ventilated rats?* *Injury* **37**(5): 380-7.
- 7 Albanese, J., C. Martin, B. Lacarelle, P. Saux, A. Durand and F. Gouin (1990). *Pharmacokinetics of long-term propofol infusion used for sedation in ICU patients*. *Anesthesiology* **73**(2): 214-7.
- 8 Ali, Z. A., C. J. Callaghan, E. Lim, A. A. Ali, S. A. Nouraei, A. M. Akthar, J. R. Boyle, K. Varty, R. K. Kharbanda, D. P. Dutka and M. E. Gaunt (2007). *Remote ischemic preconditioning reduces myocardial and renal injury after elective abdominal aortic aneurysm repair: a randomized controlled trial*. *Circulation* **116**(11 Suppl): I98-105.
- 9 Anaya-Prado, R., L. H. Toledo-Pereyra, A. B. Lentsch and P. A. Ward (2002). *Ischemia/reperfusion injury*. *J Surg Res* **105**(2): 248-58.
- 10 Anderson, K. J., J. M. Harten, M. G. Booth and J. Kinsella (2005). *The cardiovascular effects of inspired oxygen fraction in anaesthetized patients*. *Eur J Anaesthesiol* **22**(6): 420-5.
- 11 Annecke, T., J. C. Kubitz, S. Kahr, J. M. Hilberath, K. Langer, G. I. Kemming, M. Rehm, I. Bittmann and P. F. Conzen (2007). *Effects of sevoflurane and propofol on ischaemia-reperfusion injury after thoracic-aortic occlusion in pigs*. *Br J Anaesth* **98**(5): 581-90.
- 12 Arumugam, T. V., I. A. Shiels, T. M. Woodruff, D. N. Granger and S. M. Taylor (2004). *The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury*. *Shock* **21**(5): 401-9.
- 13 Ayuse, T., N. Brienza, C. P. O'Donnell and J. L. Robotham (1994). *Pressure-flow analysis of portal vein and hepatic artery interactions in porcine liver*. *Am J Physiol* **267**(4 Pt 2): H1233-42.
- 14 Back, M. R., M. Bandyk, M. Bradner, D. Cuthbertson, B. L. Johnson, M. L. Shames and D. F. Bandyk (2005). *Critical analysis of outcome determinants affecting repair of intact aneurysms involving the visceral aorta*. *Ann Vasc Surg* **19**(5): 648-56.

- 15 Barrier, A., N. Olaya, F. Chiappini, F. Roser, O. Scatton, C. Artus, B. Franc, S. Dudoit, A. Flahault, B. Debuire, D. Azoulay and A. Lemoine (2005). *Ischemic preconditioning modulates the expression of several genes, leading to the overproduction of IL-1Ra, iNOS, and Bcl-2 in a human model of liver ischemia-reperfusion*. *Faseb J* **19**(12): 1617-26.
- 16 Beck-Schimmer, B., S. Breitenstein, S. Urech, E. De Conno, M. Wittlinger, M. Puhan, W. Jochum, D. R. Spahn, R. Graf and P. A. Clavien (2008). *A randomized controlled trial on pharmacological preconditioning in liver surgery using a volatile anesthetic*. *Ann Surg* **248**(6): 909-18.
- 17 Bedirli, N., E. Ofluoglu, M. Kerem, G. Utebey, M. Alper, D. Yilmazer, A. Bedirli, O. Ozlu and H. Pasaoglu (2008). *Hepatic energy metabolism and the differential protective effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia in a rat hepatic ischemia-reperfusion injury model*. *Anesth Analg* **106**(3): 830-7.
- 18 Bilzer, M., A. Baron, R. Schauer, C. Steib, S. Ebensberger and A. L. Gerbes (2002). *Glutathione treatment protects the rat liver against injury after warm ischemia and Kupffer cell activation*. *Digestion* **66**(1): 49-57.
- 19 Bilzer, M., R. J. Schauer and A. L. Gerbes (2002). *Prävention von Ischämie-Reperfusionsschäden*. *Deutsches Ärzteblatt* **99**(28-29): 1980-1982.
- 20 Bowers, B. A., G. D. Branum, F. S. Rotolo, C. R. Watters and W. C. Meyers (1987). *Bile flow - an index of ischemic injury*. *J Surg Res* **42**(5): 565-9.
- 21 Bradford, M. M. (1976). *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. *Anal Biochem* **72**: 248-54.
- 22 Bruegger, D., A. Bauer, U. Finsterer, P. Bernasconi, U. Kreimeier and F. Christ (2002). *Microvascular changes during anesthesia: sevoflurane compared with propofol*. *Acta Anaesthesiol Scand* **46**(5): 481-7.
- 23 Butcher, E. C. (1991). *Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity*. *Cell* **67**(6): 1033-6.
- 24 Butcher, E. C. (1993). *Specificity of leukocyte-endothelial interactions and diapedesis: physiologic and therapeutic implications of an active decision process*. *Res Immunol* **144**(9): 695-8.
- 25 Caglayan, F., O. Caglayan, E. Gunel, Y. Elcuman and M. Cakmak (2002). *Intestinal ischemia-reperfusion and plasma enzyme levels*. *Pediatr Surg Int* **18**(4): 255-7.
- 26 Carden, D. L. and D. N. Granger (2000). *Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury*. *J Pathol* **190**(3): 255-66.
- 27 Carini, R., R. Autelli, G. Bellomo, M. U. Dianzani and E. Albano (1995). *Sodium-mediated cell swelling is associated with irreversible damage in isolated hepatocytes exposed to hypoxia or mitochondrial toxins*. *Biochem Biophys Res Commun* **206**(1): 180-5.
- 28 Carles, M., J. Dellamonica, J. Roux, D. Lena, J. Levraut, J. F. Pittet, P. Boileau and M. Raucoules-Aime (2008). *Sevoflurane but not propofol increases interstitial glycolysis metabolites availability during tourniquet-induced ischaemia-reperfusion*. *Br J Anaesth* **100**(1): 29-35.

- 29 Carmichael, F. J., M. W. Crawford, N. Khayyam and V. Saldivia (1993). *Effect of propofol infusion on splanchnic hemodynamics and liver oxygen consumption in the rat. A dose-response study.* *Anesthesiology* **79**(5): 1051-60.
- 30 Cason, B. A., A. K. Gamperl, R. E. Slocum and R. F. Hickey (1997). *Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits.* *Anesthesiology* **87**(5): 1182-90.
- 31 Chiari, P. C., M. W. Bienengraeber, P. S. Pagel, J. G. Krolikowski, J. R. Kersten and D. C. Warltier (2005). *Isoflurane protects against myocardial infarction during early reperfusion by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction: evidence for anesthetic-induced postconditioning in rabbits.* *Anesthesiology* **102**(1): 102-9.
- 32 Chosay, J. G., M. A. Fisher, A. Farhood, K. A. Ready, C. J. Dunn and H. Jaeschke (1998). *Role of PECAM-1 (CD31) in neutrophil transmigration in murine models of liver and peritoneal inflammation.* *Am J Physiol* **274**(4 Pt 1): G776-82.
- 33 Chun, K., J. Zhang, J. Biewer, D. Ferguson and M. G. Clemens (1994). *Microcirculatory failure determines lethal hepatocyte injury in ischemic/reperfused rat livers.* *Shock* **1**(1): 3-9.
- 34 Claeys, M. A., E. Gepts and F. Camu (1988). *Haemodynamic changes during anaesthesia induced and maintained with propofol.* *Br J Anaesth* **60**(1): 3-9.
- 35 Clavien, P. A., S. Yadav, D. Sindram and R. C. Bentley (2000). *Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans.* *Ann Surg* **232**(2): 155-62.
- 36 Cohen, G. M. (1997). *Caspases: the executioners of apoptosis.* *Biochem J* **326** (Pt 1): 1-16.
- 37 Collard, C. D. and S. Gelman (2001). *Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury.* *Anesthesiology* **94**(6): 1133-8.
- 38 Colletti, L. M., A. Cortis, N. Lukacs, S. L. Kunkel, M. Green and R. M. Strieter (1998). *Tumor necrosis factor up-regulates intercellular adhesion molecule 1, which is important in the neutrophil-dependent lung and liver injury associated with hepatic ischemia and reperfusion in the rat.* *Shock* **10**(3): 182-91.
- 39 Colletti, L. M., D. G. Remick, G. D. Burtch, S. L. Kunkel, R. M. Strieter and D. A. Campbell, Jr. (1990). *Role of tumor necrosis factor-alpha in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat.* *J Clin Invest* **85**(6): 1936-43.
- 40 Conzen, P. F., S. Fischer, C. Detter and K. Peter (2003). *Sevoflurane provides greater protection of the myocardium than propofol in patients undergoing off-pump coronary artery bypass surgery.* *Anesthesiology* **99**(4): 826-33.
- 41 Conzen, P. F., B. Vollmar, H. Habazettl, E. J. Frink, K. Peter and K. Messmer (1992). *Systemic and regional hemodynamics of isoflurane and sevoflurane in rats.* *Anesth Analg* **74**(1): 79-88.
- 42 Crawford, M. W., J. Lerman, M. Pilato, H. Orrego, V. Saldivia and F. J. Carmichael (1992). *Haemodynamic and organ blood flow responses to sevoflurane during spontaneous ventilation in the rat: a dose-response study.* *Can J Anaesth* **39**(3): 270-6.

- 43** Davies, M., T. Juynh and P.-O. Hagen (1999). *Endothelial physiology*. In: Ischemia Reperfusion Injury. P. Grace and R. Mathie (eds). Blackwell Science: London, 1999; 157-179.
- 44** De Hert, S. G. (2005). *The concept of anaesthetic-induced cardioprotection: clinical relevance*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol **19**(3): 445-59.
- 45** De Hert, S. G., P. W. ten Broecke, E. Mertens, E. W. Van Sommeren, I. G. De Blier, B. A. Stockman and I. E. Rodrigus (2002). *Sevoflurane but not propofol preserves myocardial function in coronary surgery patients*. Anesthesiology **97**(1): 42-9.
- 46** De Hert, S. G., F. Turani, S. Mathur and D. F. Stowe (2005). *Cardioprotection with volatile anesthetics: mechanisms and clinical implications*. Anesth Analg **100**(6): 1584-93.
- 47** De Hert, S. G., P. J. Van der Linden, S. Cromheecke, R. Meeus, A. Nelis, V. Van Reeth, P. W. ten Broecke, I. G. De Blier, B. A. Stockman and I. E. Rodrigus (2004). *Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing coronary surgery with cardiopulmonary bypass are related to the modalities of its administration*. Anesthesiology **101**(2): 299-310.
- 48** de Ruijter, W., R. J. Musters, C. Boer, G. J. Stienen, W. S. Simonides and J. J. de Lange (2003). *The cardioprotective effect of sevoflurane depends on protein kinase C activation, opening of mitochondrial K(+)(ATP) channels, and the production of reactive oxygen species*. Anesth Analg **97**(5): 1370-6.
- 49** Degoute, C. S. (2007). *Controlled hypotension: a guide to drug choice*. Drugs **67**(7): 1053-76.
- 50** Dixon, E., C. M. Vollmer, Jr., O. F. Bathe and F. Sutherland (2005). *Vascular occlusion to decrease blood loss during hepatic resection*. Am J Surg **190**(1): 75-86.
- 51** Ebert, T. J., E. J. Frink, Jr. and E. D. Kharasch (1998). *Absence of biochemical evidence for renal and hepatic dysfunction after 8 hours of 1.25 minimum alveolar concentration sevoflurane anesthesia in volunteers*. Anesthesiology **88**(3): 601-10.
- 52** Eefting, F., B. Rensing, J. Wigman, W. J. Pannekoek, W. M. Liu, M. J. Cramer, D. J. Lips and P. A. Doevendans (2004). *Role of apoptosis in reperfusion injury*. Cardiovasc Res **61**(3): 414-26.
- 53** Eide, T. O., J. Aasland, P. Romundstad, R. Stenseth, O. D. Saether, P. Aadahl and H. O. Myhre (2005). *Changes in hemodynamics and acid-base balance during cross-clamping of the descending thoracic aorta. A study in patients operated on for thoracic and thoracoabdominal aortic aneurysm*. Eur Surg Res **37**(6): 330-4.
- 54** Elefteriades, J. A. (2008). *Thoracic aortic aneurysm: reading the enemy's playbook*. Yale J Biol Med **81**(4): 175-86.
- 55** Fischer, U. M., R. S. Radhakrishnan, K. S. Uray, H. Xue and C. S. Cox, Jr. (2009). *Myocardial function after gut ischemia/reperfusion: does NF kappaB play a role?* J Surg Res **152**(2): 264-70.
- 56** Fondevila, C., R. W. Busuttill and J. W. Kupiec-Weglinski (2003). *Hepatic ischemia/reperfusion injury--a fresh look*. Exp Mol Pathol **74**(2): 86-93.
- 57** Frink, E. J., Jr. (1995). *The hepatic effects of sevoflurane*. Anesth Analg **81**(6 Suppl): S46-50.

- 58 Frink, E. J., Jr., S. E. Morgan, A. Coetzee, P. F. Conzen and B. R. Brown, Jr. (1992). *The effects of sevoflurane, halothane, enflurane, and isoflurane on hepatic blood flow and oxygenation in chronically instrumented greyhound dogs*. *Anesthesiology* **76**(1): 85-90.
- 59 Gasbarrini, A., A. B. Borle, H. Farghali, C. Bender, A. Francavilla and D. Van Thiel (1992). *Effect of anoxia on intracellular ATP, Na⁺i, Ca²⁺i, Mg²⁺i, and cytotoxicity in rat hepatocytes*. *J Biol Chem* **267**(10): 6654-63.
- 60 Gelman, S. (1995). *The pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping*. *Anesthesiology* **82**(4): 1026-60.
- 61 Gelman, S., H. McDowell, P. D. Varner, J. Pearson, J. Ebert, G. Graybar and J. Proctor (1988). *The reason for cardiac output reduction after aortic cross-clamping*. *Am J Surg* **155**(4): 578-86.
- 62 Gelman, S., J. G. Reves, K. Fowler, P. N. Samuelson, W. A. Lell and L. R. Smith (1983). *Regional blood flow during cross-clamping of the thoracic aorta and infusion of sodium nitroprusside*. *J Thorac Cardiovasc Surg* **85**(2): 287-91.
- 63 Gelman, S. I. (1976). *Disturbances in hepatic blood flow during anesthesia and surgery*. *Arch Surg* **111**(8): 881-3.
- 64 Gloviczki, P. (2002). *Surgical repair of thoracoabdominal aneurysms: patient selection, techniques and results*. *Cardiovasc Surg* **10**(4): 434-41.
- 65 Grasl-Kraupp, B., B. Ruttkay-Nedecky, H. Koudelka, K. Bukowska, W. Bursch and R. Schulte-Hermann (1995). *In situ detection of fragmented DNA (TUNEL assay) fails to discriminate among apoptosis, necrosis, and autolytic cell death: a cautionary note*. *Hepatology* **21**(5): 1465-8.
- 66 Grundmann, U., H. Lausberg and H. J. Schafers (2006). *Acute aortic dissection. Differential diagnosis of a thoracic emergency*. *Anaesthesist* **55**(1): 53-63.
- 67 Gujral, J. S., T. J. Bucci, A. Farhood and H. Jaeschke (2001). *Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis?* *Hepatology* **33**(2): 397-405.
- 68 Hagan, P. G., C. A. Nienaber, E. M. Isselbacher, D. Bruckman, D. J. Karavite, P. L. Russman, A. Evangelista, R. Fattori, T. Suzuki, J. K. Oh, A. G. Moore, J. F. Malouf, L. A. Pape, C. Gaca, U. Sechtem, S. Lenferink, H. J. Deutsch, H. Diedrichs, J. Marcos y Robles, A. Llovet, D. Gilon, S. K. Das, W. F. Armstrong, G. M. Deeb and K. A. Eagle (2000). *The International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD): new insights into an old disease*. *Jama* **283**(7): 897-903.
- 69 Harward, T. R., M. B. Welborn, 3rd, T. D. Martin, T. C. Flynn, T. S. Huber, L. L. Moldawer and J. M. Seeger (1996). *Visceral ischemia and organ dysfunction after thoracoabdominal aortic aneurysm repair. A clinical and cost analysis*. *Ann Surg* **223**(6): 729-34.
- 70 Hausenloy, D. J. and D. M. Yellon (2007). *Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion*. *Pharmacol Ther* **116**(2): 173-91.
- 71 Hausenloy, D. J. and D. M. Yellon (2008). *Preconditioning and postconditioning: new strategies for cardioprotection*. *Diabetes Obes Metab* **10**(6): 451-9.

- 72 Heindl, B., F. M. Reichle, S. Zahler, P. F. Conzen and B. F. Becker (1999). *Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing postischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils*. *Anesthesiology* **91**(2): 521-30.
- 73 Holaday, D. A. and F. R. Smith (1981). *Clinical characteristics and biotransformation of sevoflurane in healthy human volunteers*. *Anesthesiology* **54**(2): 100-6.
- 74 Horie, Y. and H. Ishii (2001). *Liver dysfunction elicited by gut ischemia-reperfusion*. *Pathophysiology* **8**(1): 11-20.
- 75 Horie, Y., R. Wolf, M. Miyasaka, D. C. Anderson and D. N. Granger (1996). *Leukocyte adhesion and hepatic microvascular responses to intestinal ischemia/reperfusion in rats*. *Gastroenterology* **111**(3): 666-73.
- 76 Hu, G., M. R. Salem and G. J. Crystal (2004). *Isoflurane and sevoflurane precondition against neutrophil-induced contractile dysfunction in isolated rat hearts*. *Anesthesiology* **100**(3): 489-97.
- 77 Imai, M., S. Kon and H. Inaba (1996). *Effects of halothane, isoflurane and sevoflurane on ischemia-reperfusion injury in the perfused liver of fasted rats*. *Acta Anaesthesiol Scand* **40**(10): 1242-8.
- 78 Institute of Laboratory Animal Resources, C. o. L. S., National Research Council (1996). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. In: (eds). National Academy Press, Washington, D.C.: 1996; 8-125.
- 79 Ishida, H., Y. Kadota, T. Sameshima, A. Nishiyama, T. Oda and Y. Kanmura (2002). *Comparison between sevoflurane and isoflurane anesthesia in pig hepatic ischemia-reperfusion injury*. *J Anesth* **16**(1): 44-50.
- 80 Jack, E. S., M. Shaw, J. M. Harten, K. Anderson and J. Kinsella (2008). *Cardiovascular changes after achieving constant effect site concentration of propofol*. *Anaesthesia* **63**(2): 116-20.
- 81 Jaeschke, H. (2002). *Reperfusion injury after warm ischemia or cold storage of the liver: role of apoptotic cell death*. *Transplant Proc* **34**(7): 2656-8.
- 82 Jaeschke, H. (2003). *Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **284**(1): G15-26.
- 83 Jaeschke, H. (2006). *Mechanisms of Liver Injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **290**(6): G1083-8.
- 84 Jaeschke, H. and A. Farhood (1991). *Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver*. *Am J Physiol* **260**(3 Pt 1): G355-62.
- 85 Jaeschke, H., A. Farhood and C. W. Smith (1990). *Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo*. *Faseb J* **4**(15): 3355-9.
- 86 Jaeschke, H. and J. J. Lemasters (2003). *Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury*. *Gastroenterology* **125**(4): 1246-57.
- 87 Jaeschke, H. and C. W. Smith (1997). *Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury*. *J Leukoc Biol* **61**(6): 647-53.
- 88 Juel, I. S., E. Solligard, O. Lyng, T. Stromholm, K. E. Tvedt, H. Johnsen, P. Jynge, O. D. Saether, P. Aadahl and J. E. Gronbech (2004). *Intestinal injury after thoracic aortic cross-clamping in the pig*. *J Surg Res* **117**(2): 283-95.

- 89** Julier, K., R. da Silva, C. Garcia, L. Bestmann, P. Frascarolo, A. Zollinger, P. G. Chassot, E. R. Schmid, M. I. Turina, L. K. von Segesser, T. Pasch, D. R. Spahn and M. Zaugg (2003). *Preconditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, placebo-controlled, multicenter study*. *Anesthesiology* **98**(6): 1315-27.
- 90** Kahn, R. A., M. E. Stone and D. M. Moskowitz (2007). *Anesthetic consideration for descending thoracic aortic aneurysm repair*. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* **11**(3): 205-23.
- 91** Kahraman, S. and A. T. Demiryurek (1997). *Propofol is a peroxynitrite scavenger*. *Anesth Analg* **84**(5): 1127-9.
- 92** Kalb, R., P. Schober, L. A. Schwarte, J. Weimann and S. A. Loer (2008). *Preconditioning, but not postconditioning, with Sevoflurane reduces pulmonary neutrophil accumulation after lower body ischaemia/reperfusion injury in rats*. *Eur J Anaesthesiol* **25**(6): 454-9.
- 93** Kapral, C., M. Binder, R. Buder, C. Csillag, F. Firlinger, A. Gegenhuber, K. Lenz, F. Wewalka and B. Überall (2005). *Leberversagen bei Sepsis und Multiorganversagen*. *Journal für Gastroenterologische und Hepatologische Erkrankungen* **3**(2): 7-12.
- 94** Kato, A., C. Gabay, T. Okaya and A. B. Lentsch (2002). *Specific role of interleukin-1 in hepatic neutrophil recruitment after ischemia/reperfusion*. *Am J Pathol* **161**(5): 1797-803.
- 95** Kawano, T., S. Oshita, Y. Tsutsumi, Y. Tomiyama, H. Kitahata, Y. Kuroda, A. Takahashi and Y. Nakaya (2002). *Clinically relevant concentrations of propofol have no effect on adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in rat ventricular myocytes*. *Anesthesiology* **96**(6): 1472-7.
- 96** Kersten, J. R., T. J. Schmeling, D. A. Hettrick, P. S. Pagel, G. J. Gross and D. C. Warltier (1996). *Mechanism of myocardial protection by isoflurane. Role of adenosine triphosphate-regulated potassium (KATP) channels*. *Anesthesiology* **85**(4): 794-807; discussion 27A.
- 97** Khandoga, A. (2002). *Analyse der Thrombozyten-Endothelzell-Interaktion bei hepatischer Ischämie-Reperfusion*. Med. Dissertationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- 98** Khandoga, A., P. Biberthaler, G. Enders, S. Axmann, J. Hutter, K. Messmer and F. Krombach (2002). *Platelet adhesion mediated by fibrinogen-intercellular adhesion molecule-1 binding induces tissue injury in the postischemic liver in vivo*. *Transplantation* **74**(5): 681-8.
- 99** Khandoga, A., P. Biberthaler, G. Enders, D. Teupser, S. Axmann, B. Luchting, J. Hutter, K. Messmer and F. Krombach (2002). *P-selectin mediates platelet-endothelial cell interactions and reperfusion injury in the mouse liver in vivo*. *Shock* **18**(6): 529-35.
- 100** Khandoga, A., P. Biberthaler, K. Messmer and F. Krombach (2003). *Platelet-endothelial cell interactions during hepatic ischemia-reperfusion in vivo: a systematic analysis*. *Microvasc Res* **65**(2): 71-7.
- 101** Khandoga, A., J. S. Kessler, H. Meissner, M. Hanschen, M. Corada, T. Motoike, G. Enders, E. Dejana and F. Krombach (2005). *Junctional adhesion molecule-A deficiency increases hepatic ischemia-reperfusion injury despite reduction of neutrophil transendothelial migration*. *Blood* **106**(2): 725-33.

- 102** Kim, S. K., D. Jee, J. Y. Kim and J. H. Choi (2007). *Effects of propofol on early phase of warm hepatic ischemia/reperfusion injury*. *Hepatogastroenterology* **54**(80): 2333-6.
- 103** Kixmüller, M. (2004). *Labordiagnostische Referenzbereiche bei unterschiedlichen Schweinerassen sowie histopathologische und immunhistochemische Untersuchung von Gehirnen älterer Sauen und Eber auf transmissible spongiforme Enzephalopathie im Rahmen der TSE-Studie*. Tiermed. Dissertationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- 104** Kohli, V., M. Selzner, J. F. Madden, R. C. Bentley and P. A. Clavien (1999). *Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver*. *Transplantation* **67**(8): 1099-105.
- 105** Koksel, O., C. Yildirim, L. Cinel, L. Tamer, A. Ozdulger, M. Basturk, U. Degirmenci, A. Kanik and I. Cinel (2005). *Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase attenuates lung tissue damage after hind limb ischemia-reperfusion in rats*. *Pharmacol Res* **51**(5): 453-62.
- 106** Kong, S. E., L. R. Blennerhassett, K. A. Heel, R. D. McCauley and J. C. Hall (1998). *Ischaemia-reperfusion injury to the intestine*. *Aust N Z J Surg* **68**(8): 554-61.
- 107** Koo, A., H. Komatsu, G. Tao, M. Inoue, P. H. Guth and N. Kaplowitz (1992). *Contribution of no-reflow phenomenon to hepatic injury after ischemia-reperfusion: evidence for a role for superoxide anion*. *Hepatology* **15**(3): 507-14.
- 108** Kopperschlager, G. and J. Kirchberger (1996). *Methods for the separation of lactate dehydrogenases and clinical significance of the enzyme*. *J Chromatogr B Biomed Appl* **684**(1-2): 25-49.
- 109** Korthuis, R. J., J. K. Smith and D. L. Carden (1989). *Hypoxic reperfusion attenuates postischemic microvascular injury*. *Am J Physiol* **256**(1 Pt 2): H315-9.
- 110** Kowalski, C., S. Zahler, B. F. Becker, A. Flaucher, P. F. Conzen, E. Gerlach and K. Peter (1997). *Halothane, isoflurane, and sevoflurane reduce postischemic adhesion of neutrophils in the coronary system*. *Anesthesiology* **86**(1): 188-95.
- 111** Kreisberg, R. A. (1980). *Lactate homeostasis and lactic acidosis*. *Ann Intern Med* **92**(2 Pt 1): 227-37.
- 112** Kurokawa, T., T. Nonami, A. Harada, A. Nakao and H. Takagi (1996). *Mechanism and prevention of ischemia-reperfusion injury of the liver*. *Semin Surg Oncol* **12**(3): 179-82.
- 113** Labat-Moleur, F., C. Guillermet, P. Lorimier, C. Robert, S. Lantuejoul, E. Brambilla and A. Negoescu (1998). *TUNEL apoptotic cell detection in tissue sections: critical evaluation and improvement*. *J Histochem Cytochem* **46**(3): 327-34.
- 114** Lauth, W. W. (1985). *Mechanism and role of intrinsic regulation of hepatic arterial blood flow: hepatic arterial buffer response*. *Am J Physiol* **249**(5 Pt 1): G549-56.
- 115** Lauth, W. W. (1996). *The 1995 Ciba-Geigy Award Lecture. Intrinsic regulation of hepatic blood flow*. *Can J Physiol Pharmacol* **74**(3): 223-33.
- 116** Lauth, W. W. (2007). *Regulatory processes interacting to maintain hepatic blood flow constancy: Vascular compliance, hepatic arterial buffer response, hepatorenal reflex, liver regeneration, escape from vasoconstriction*. *Hepatol Res* **37**(11): 891-903.
- 117** Lee, H. T., A. Ota-Setlik, Y. Fu, S. H. Nasr and C. W. Emala (2004). *Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury in vivo*. *Anesthesiology* **101**(6): 1313-24.

- 118** Lemasters, J. J. (1999). *V. Necrapoptosis and the mitochondrial permeability transition: shared pathways to necrosis and apoptosis*. Am J Physiol **276**(1 Pt 1): G1-6.
- 119** Liu, R., Y. Ishibe and M. Ueda (2000). *Isoflurane-sevoflurane administration before ischemia attenuates ischemia-reperfusion-induced injury in isolated rat lungs*. Anesthesiology **92**(3): 833-40.
- 120** Lorsomradee, S., S. Cromheecke, S. Lorsomradee and S. G. De Hert (2006). *Effects of sevoflurane on biomechanical markers of hepatic and renal dysfunction after coronary artery surgery*. J Cardiothorac Vasc Anesth **20**(5): 684-90.
- 121** Loscar, M. and P. Conzen (2004). *Volatile Anästhetika*. Anaesthesist **53**(2): 183-98.
- 122** Lu, J., W. J. Zang, X. J. Yu, L. N. Chen, C. H. Zhang and B. Jia (2005). *Effects of ischaemia-mimetic factors on isolated rat ventricular myocytes*. Exp Physiol **90**(4): 497-505.
- 123** March, S., J. C. Garcia-Pagan, A. Massaguer, P. Pizcueta, J. Panes, P. Engel and J. Bosch (2005). *P-selectin mediates leukocyte rolling in concanavalin-A-induced hepatitis*. Liver Int **25**(5): 1053-60.
- 124** Massip-Salcedo, M., J. Rosello-Catafau, J. Prieto, M. A. Avila and C. Peralta (2007). *The response of the hepatocyte to ischemia*. Liver Int **27**(1): 6-16.
- 125** Maxwell, S. R. and G. Y. Lip (1997). *Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options*. Int J Cardiol **58**(2): 95-117.
- 126** Meguro, M., T. Katsuramaki, H. Kimura, M. Isobe, M. Nagayama, K. Kukita, A. Nui and K. Hirata (2003). *Apoptosis and necrosis after warm ischemia-reperfusion injury of the pig liver and their inhibition by ONO-1714*. Transplantation **75**(5): 703-10.
- 127** Menger, M. D., S. Richter, J. Yamauchi and B. Vollmar (1999). *Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury*. Hepatogastroenterology **46 Suppl 2**: 1452-7.
- 128** Menger, M. D., D. Steiner and K. Messmer (1992). *Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "no reflow"*. Am J Physiol **263**(6 Pt 2): H1892-900.
- 129** Messmer, K. (1982). *Rheologische Grundlagen der Schocktherapie*. Internist (Berl) **23**(8): 445-9.
- 130** Messmer, K. and U. Kreimeier (1989). *Microcirculatory therapy in shock*. Resuscitation **18 Suppl**: S51-61.
- 131** Messmer, K. and M. D. Menger (1993). *Liver microcirculation and hepatobiliary function*. In: Progress in applied microcirculation. K. Messmer and M. D. Menger (eds). Karger: Basel, 1993; 1-172.
- 132** Meszaros, I., J. Morocz, J. Szlavi, J. Schmidt, L. Tornoci, L. Nagy and L. Szep (2000). *Epidemiology and clinicopathology of aortic dissection*. Chest **117**(5): 1271-8.
- 133** Miller, C. D., W. Fitch and I. A. Thomson (1990). *Effect of isoflurane on the canine hepatic circulation and hepatic oxygen balance*. Br J Anaesth **65**(5): 698-703.
- 134** Mills, C. O., J. F. Freeman, P. J. Salt and E. Elias (1989). *Effect of anaesthetic agents on bile flow and biliary excretion of ¹³¹I-cholylglycyltyrosine in the rat*. Br J Anaesth **62**(3): 311-5.

- 135** Minguet, G., J. Joris and M. Lamy (2007). *Preconditioning and protection against ischaemia-reperfusion in non-cardiac organs: a place for volatile anaesthetics?* Eur J Anaesthesiol **24**(9): 733-45.
- 136** Mobert, J., S. Zahler, B. F. Becker and P. F. Conzen (1999). *Inhibition of neutrophil activation by volatile anesthetics decreases adhesion to cultured human endothelial cells.* Anesthesiology **90**(5): 1372-81.
- 137** Mockford, K. A., H. R. Girn and S. Homer-Vanniasinkam (2009). *Postconditioning: current controversies and clinical implications.* Eur J Vasc Endovasc Surg **37**(4): 437-42.
- 138** Montalvo-Jave, E. E., T. Escalante-Tattersfield, J. A. Ortega-Salgado, E. Pina and D. A. Geller (2008). *Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury.* J Surg Res **147**(1): 153-9.
- 139** Morgan, D. J., G. A. Campbell and D. P. Crankshaw (1990). *Pharmacokinetics of propofol when given by intravenous infusion.* Br J Clin Pharmacol **30**(1): 144-8.
- 140** Murry, C. E., R. B. Jennings and K. A. Reimer (1986). *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium.* Circulation **74**(5): 1124-36.
- 141** Nagano, K., S. Gelman, D. Parks and E. L. Bradley, Jr. (1990). *Hepatic circulation and oxygen supply-uptake relationships after hepatic ischemic insult during anesthesia with volatile anesthetics and fentanyl in miniature pigs.* Anesth Analg **70**(1): 53-62.
- 142** Neary, P. and H. Redmond (1999). *Ischaemia reperfusion injury and the systemic inflammatory response syndrome.* In: Ischemia Reperfusion Injury. P. Grace and R. Mathie (eds). Blackwell Science: London, 1999; 123-126.
- 143** Nicotera, P., M. Leist and E. Ferrando-May (1998). *Intracellular ATP, a switch in the decision between apoptosis and necrosis.* Toxicol Lett **102-103**: 139-42.
- 144** Nielsen, V. G., S. Tan, K. A. Kirk, M. S. Baird, A. T. McCammon, P. N. Samuelson and D. A. Parks (1997). *Halothane and xanthine oxidase increase hepatocellular enzyme release and circulating lactate after ischemia-reperfusion in rabbits.* Anesthesiology **87**(4): 908-17.
- 145** Nieuwenhuijs, V. B., M. T. De Bruijn, R. T. Padbury and G. J. Barritt (2006). *Hepatic ischemia-reperfusion injury: roles of Ca²⁺ and other intracellular mediators of impaired bile flow and hepatocyte damage.* Dig Dis Sci **51**(6): 1087-102.
- 146** Nieuwenhuijs, V. B., M. T. de Bruijn, M. Schiesser, A. Morphet, R. T. Padbury and G. J. Barritt (2007). *Ischemic preconditioning and intermittent ischemia preserve bile flow in a rat model of ischemia/reperfusion injury.* Dig Dis Sci **52**(11): 3029-37.
- 147** Normann, N. A., A. A. Taylor, E. S. Crawford, M. E. DeBakey and S. A. Saleh (1983). *Catecholamine release during and after cross clamping of descending thoracic aorta.* J Surg Res **34**(2): 97-103.
- 148** Novalija, E., S. Fujita, J. P. Kampine and D. F. Stowe (1999). *Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts.* Anesthesiology **91**(3): 701-12.
- 149** Oberholzer, M. J. (2001). *Pathologie Verstehen - Molekulare Grundlagen der allgemeinen Pathologie.* Thieme: Stuttgart, 17-25.
- 150** Oguchi, T., S. Kashimoto, T. Yamaguchi, T. Nakamura and T. Kumazawa (1995). *Comparative effects of halothane, enflurane, isoflurane and sevoflurane on function and metabolism in the ischaemic rat heart.* Br J Anaesth **74**(5): 569-75.

- 151** Parks, D. A. and D. N. Granger (1986). *Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation*. Am J Physiol **250**(6 Pt 1): G749-53.
- 152** Parums, D. (1999). *The pathology of ischaemia-reperfusion injury*. In: Ischemia Reperfusion Injury. P. Grace and R. Mathie (eds). Blackwell Science: London, 1999; 3-19.
- 153** Patel, P. D. and R. R. Arora (2008). *Pathophysiology, diagnosis, and management of aortic dissection*. Ther Adv Cardiovasc Dis **2**(6): 439-68.
- 154** Poggetti, R. S., E. E. Moore, F. A. Moore, K. Koike and A. Banerjee (1992). *Gut ischemia/reperfusion-induced liver dysfunction occurs despite sustained oxygen consumption*. J Surg Res **52**(5): 436-42.
- 155** Preus, M., B. Karsten and A. S. Bhargava (1989). *Serum isoenzyme pattern of creatine kinase and lactate dehydrogenase in various animal species*. J Clin Chem Clin Biochem **27**(10): 787-90.
- 156** Ramalho, F. S., I. Fernandez-Monteiro, J. Rosello-Catafau and C. Peralta (2006). *Hepatic microcirculatory failure*. Acta Cir Bras **21 Suppl 1**: 48-53.
- 157** Richards, J. M., C. Moores, A. Nimmo and R. T. Chalmers (2008). *Thoracoabdominal aneurysm disease*. Scott Med J **53**(4): 38-42.
- 158** Roma, M. G. and E. J. Sanchez Pozzi (2008). *Oxidative stress: a radical way to stop making bile*. Ann Hepatol **7**(1): 16-33.
- 159** Sadler, K. M., T. S. Walsh, O. J. Garden and A. Lee (2001). *Comparison of hepatic artery and portal vein reperfusion during orthotopic liver transplantation*. Transplantation **72**(10): 1680-4.
- 160** Safi, H. J., C. C. Miller, 3rd, D. H. Yawn, D. C. Iliopoulos, M. Subramaniam, S. Harlin and G. V. Letsou (1998). *Impact of distal aortic and visceral perfusion on liver function during thoracoabdominal and descending thoracic aortic repair*. J Vasc Surg **27**(1): 145-52.
- 161** Schauer, R. J., A. L. Gerbes, D. Vonier, M. op den Winkel, P. Fraunberger and M. Bilzer (2003). *Induction of cellular resistance against Kupffer cell-derived oxidant stress: a novel concept of hepatoprotection by ischemic preconditioning*. Hepatology **37**(2): 286-95.
- 162** Schelzig, H., L. Sunder-Plassmann, K. Träger, M. Georgieff, P. Radermacher and G. Fröba (2003). *Ischämie- und Reperfusion des intestinalen und hepatischen Stromgebiets bei thorakalen Crossclamping*. Gefässchirurgie **8**(2): 92-99.
- 163** Schiesser, M., A. Wittert, V. B. Nieuwenhuijs, A. Morphett, R. T. Padbury and G. J. Barritt (2008). *Intermittent Ischemia but Not Ischemic Preconditioning Is Effective in Restoring Bile Flow After Ischemia Reperfusion Injury in the Livers of Aged Rats*. J Surg Res([Epub ahead of print]).
- 164** Schipke, J. D., F. Kerendi, E. Gams and J. Vinten-Johansen (2006). *[Postconditioning: a brief review]*. Herz **31**(6): 600-6.
- 165** Selzner, N., H. Rudiger, R. Graf and P. A. Clavien (2003). *Protective strategies against ischemic injury of the liver*. Gastroenterology **125**(3): 917-36.
- 166** Shim, Y. H. and J. R. Kersten (2008). *Preconditioning, anesthetics, and perioperative medication*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol **22**(1): 151-65.

- 167** Simon, F., E. Jäger, P. Radermacher, E. Calzia, U. B. Brückner, M. Thiery, A. Oberhuber, J. Kick, K. H. Orend, L. Sunder-Plassmann and H. Schelzig (2009). *Konditionierung von Ischämie/Reperfusionenphänomenen*. *Gefäßchirurgie* **14**(1): 16-23.
- 168** Simon, F., A. Scheuerle, E. Calzia, G. Bassi, S. Oter, C. N. Duy, J. Kick, U. B. Bruckner, P. Radermacher and H. Schelzig (2008). *Erythropoietin during porcine aortic balloon occlusion-induced ischemia/reperfusion injury*. *Crit Care Med* **36**(7): 2143-50.
- 169** Skyschally, A., R. Schulz and G. Heusch (2008). *Pathophysiology of myocardial infarction: protection by ischemic pre- and postconditioning*. *Herz* **33**(2): 88-100.
- 170** Song, J. M., H. S. Kim, J. K. Song, D. H. Kang, M. K. Hong, J. J. Kim, S. W. Park, S. J. Park, T. H. Lim and M. G. Song (2003). *Usefulness of the initial noninvasive imaging study to predict the adverse outcomes in the medical treatment of acute type A aortic intramural hematoma*. *Circulation* **108** Suppl 1: II324-8.
- 171** Stadnicka, A., J. Marinovic, M. Ljubkovic, M. W. Bienengraeber and Z. J. Bosnjak (2007). *Volatile anesthetic-induced cardiac preconditioning*. *J Anesth* **21**(2): 212-9.
- 172** Suttner, S. W., C. C. Schmidt, J. Boldt, I. Huttner, B. Kumle and S. N. Piper (2000). *Low-flow desflurane and sevoflurane anesthesia minimally affect hepatic integrity and function in elderly patients*. *Anesth Analg* **91**(1): 206-12.
- 173** Suzuki, S., K. Inaba and H. Konno (2008). *Ischemic preconditioning in hepatic ischemia and reperfusion*. *Curr Opin Organ Transplant* **13**(2): 142-7.
- 174** Takamatsu, Y., K. Shimada, K. Chijiwa, S. Kuroki, K. Yamaguchi and M. Tanaka (2004). *Role of leukotrienes on hepatic ischemia/reperfusion injury in rats*. *J Surg Res* **119**(1): 14-20.
- 175** Teoh, N. C. and G. C. Farrell (2003). *Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection*. *J Gastroenterol Hepatol* **18**(8): 891-902.
- 176** Thibault, H., C. Piot and M. Ovize (2007). *Postconditioning in man*. *Heart Fail Rev* **12**(3-4): 245-8.
- 177** Thiry, J. C., P. Hans, G. Deby-Dupont, A. Mouythis-Mickalad, V. Bonhomme and M. Lamy (2004). *Propofol scavenges reactive oxygen species and inhibits the protein nitration induced by activated polymorphonuclear neutrophils*. *Eur J Pharmacol* **499**(1-2): 29-33.
- 178** Tisi, P. and C. Shearman (1999). *Systemic consequences of reperfusion*. In: *Ischemia Reperfusion Injury*. P. Grace and R. Mathie (eds). Blackwell Science: London, 1999; 20-30.
- 179** Toller, W. G., J. R. Kersten, P. S. Pagel, D. A. Hettrick and D. C. Warltier (1999). *Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases the time threshold for ischemic preconditioning in dogs*. *Anesthesiology* **91**(5): 1437-46.
- 180** Turnage, R. H., J. Bagnasco, J. Berger, K. S. Guice, K. T. Oldham and D. B. Hinshaw (1991). *Hepatocellular oxidant stress following intestinal ischemia-reperfusion injury*. *J Surg Res* **51**(6): 467-71.
- 181** Turnage, R. H., K. M. Kadesky, S. I. Myers, K. S. Guice and K. T. Oldham (1996). *Hepatic hypoperfusion after intestinal reperfusion*. *Surgery* **119**(2): 151-60.
- 182** Van der Linden, P., D. Schmartz, E. Gilbert, E. Engelman and J. L. Vincent (2000). *Effects of propofol, etomidate, and pentobarbital on critical oxygen delivery*. *Crit Care Med* **28**(7): 2492-9.

- 183** Vollmar, B., J. Glasz, R. Leiderer, S. Post and M. D. Menger (1994). *Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant of liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion*. Am J Pathol **145**(6): 1421-31.
- 184** Vollmar, B., J. Glasz, M. D. Menger and K. Messmer (1995). *Leukocytes contribute to hepatic ischemia/reperfusion injury via intercellular adhesion molecule-1-mediated venular adherence*. Surgery **117**(2): 195-200.
- 185** Vollmar, B., S. Richter and M. D. Menger (1996). *Leukocyte stasis in hepatic sinusoids*. Am J Physiol **270**(5 Pt 1): G798-803.
- 186** Warltier, D. C., M. H. al-Wathiqui, J. P. Kampine and W. T. Schmeling (1988). *Recovery of contractile function of stunned myocardium in chronically instrumented dogs is enhanced by halothane or isoflurane*. Anesthesiology **69**(4): 552-65.
- 187** Weber, N. C. and W. Schlack (2005). *The concept of anaesthetic-induced cardioprotection: mechanisms of action*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol **19**(3): 429-43.
- 188** Weigang, E., C. F. Vahl, C. A. Nienaber, T. C. Rehders, H. Ince and F. Beyersdorf (2008). *Management of patients with aortic dissection*. Dtsch Arztebl Int **105**(38): 639-45.
- 189** Welborn, M. B., 3rd, W. G. Douglas, Z. Abouhamze, T. Auffenburg, A. S. Abouhamze, J. Baumhofer, J. M. Seeger, J. H. Pruitt, P. D. Edwards, R. Chizzonite, D. Martin, L. L. Moldawer and T. R. Harward (1996). *Visceral ischemia-reperfusion injury promotes tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-1 (IL-1) dependent organ injury in the mouse*. Shock **6**(3): 171-6.
- 190** Welborn, M. B., 3rd, L. L. Moldawer, J. M. Seeger, R. M. Minter and T. S. Huber (2003). *Role of endogenous interleukin-10 in local and distant organ injury after visceral ischemia-reperfusion*. Shock **20**(1): 35-40.
- 191** Welborn, M. B., H. S. Oldenburg, P. J. Hess, T. S. Huber, T. D. Martin, J. A. Rauwerda, R. I. Wesdorp, N. J. Espat, E. M. Copeland, 3rd, L. L. Moldawer and J. M. Seeger (2000). *The relationship between visceral ischemia, proinflammatory cytokines, and organ injury in patients undergoing thoracoabdominal aortic aneurysm repair*. Crit Care Med **28**(9): 3191-7.
- 192** Wijnen, M. H., R. M. Roumen, H. L. Vader and R. J. Goris (2002). *A multiantioxidant supplementation reduces damage from ischaemia reperfusion in patients after lower torso ischaemia. A randomised trial*. Eur J Vasc Endovasc Surg **23**(6): 486-90.
- 193** Wouters, P., M.-F. Doursout, S. Kashimoto, C. Lawrence, R. G. Merin and J. E. Chelly (1989). *Sevoflurane preserved hepatic arterial blood flow in dogs*. Anesthesiology **71**(3A): 306.
- 194** Wouters, P. F., M. Van de Velde and J. Van Hemelrijck (1997). *Cardiovascular Effects of Propofol*. Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia **1**(2): 121-131.
- 195** Wunder, C., N. Roewer and O. Eichelbronner (2004). *Main determinants of liver microcirculation during systemic inflammation*. Anaesthesist **53**(11): 1073-85.
- 196** Zaugg, M., E. Lucchinetti, C. Garcia, T. Pasch, D. R. Spahn and M. C. Schaub (2003). *Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part II. Clinical implications*. Br J Anaesth **91**(4): 566-76.

- 197** Zaugg, M., E. Lucchinetti, D. R. Spahn, T. Pasch, C. Garcia and M. C. Schaub (2002). *Differential effects of anesthetics on mitochondrial K(ATP) channel activity and cardiomyocyte protection*. *Anesthesiology* **97**(1): 15-23.
- 198** Zaugg, M., E. Lucchinetti, M. Uecker, T. Pasch and M. C. Schaub (2003). *Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms*. *Br J Anaesth* **91**(4): 551-65.
- 199** Zhao, J., A. Schmid-Kotsas, H. J. Gross, A. Gruenert and M. G. Bachem (2003). *Sensitivity and specificity of different staining methods to monitor apoptosis induced by oxidative stress in adherent cells*. *Chin Med J (Engl)* **116**(12): 1923-9.
- 200** Zhao, Z. Q., J. S. Corvera, M. E. Halkos, F. Kerendi, N. P. Wang, R. A. Guyton and J. Vinten-Johansen (2003). *Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **285**(2): H579-88.
- 201** Zhu, T., Q. Pang, S. A. McCluskey and C. Luo (2008). *Effect of propofol on hepatic blood flow and oxygen balance in rabbits*. *Can J Anaesth* **55**(6): 364-70.
- 202** Zimmerman, B. J. and D. N. Granger (1994). *Mechanisms of reperfusion injury*. *Am J Med Sci* **307**(4): 284-92.

8 Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht.

1 Annecke, T., J. C. Kubitz, K. Langer, J. M. Hilberath, S. Kahr, F. Krombach, I. Bittmann, M. Rehm, G. I. Kemming and P. F. Conzen (2008). *Lung injury following thoracic aortic occlusion: comparison of sevoflurane and propofol anaesthesia*. *Acta Anaesthesiol Scand* **52**(7): 977-86.

2 Annecke, T., J. C. Kubitz, S. Kahr, J. M. Hilberath, K. Langer, G. I. Kemming, M. Rehm, I. Bittmann and P. F. Conzen (2007). *Effects of sevoflurane and propofol on ischaemia-reperfusion injury after thoracic-aortic occlusion in pigs*. *Br J Anaesth* **98**(5): 581-90.

9 Danksagung

Mein ausdrücklicher Dank gilt Prof. Dr. med. P. F. Conzen für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe und die engagierte Supervision dieser Studie. Auch die konstruktiven Anmerkungen durch Herrn Prof. Conzen während der Entwicklung der Dissertationsschrift waren für mich sehr wertvoll.

Gleichermaßen möchte ich Prof. Dr. A. Baethmann danken, der mich am Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München herzlich willkommen hieß. Hier waren die Durchführung der Experimente in professionellem und kollegialem Umfeld sowie der konstruktiv-inhaltliche Gedankenaustausch nicht nur während der Kolloquien möglich. In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch besonders bei Dr. med. A. Khandoga für die äußerst praktischen Hilfestellungen im Bereich der Leberpathologie bedanken.

Diese Doktorarbeit wäre ohne meinen Betreuer Dr. med. T. Annecke schlichtweg unmöglich gewesen. Sein unermüdlicher Einsatz in allen Phasen unserer Arbeit – von der Planung bis zur geduldigen Durchsicht des Manuskriptes – und die Begeisterung für die Materie waren mir stets ein Vorbild. Für die studienbegleitende vorzügliche Ausbildung in Theorie und Praxis bin ich besonders dankbar.

Für die intensive und freundschaftliche Zusammenarbeit bin ich den weiteren Teammitgliedern Dr. med. J. C. Kubitz, S. Kahr und K. Langer zu großem Dank verpflichtet.

Besonders möchte ich mich auch bei Prof. Dr. med. G. I. Kemming bedanken, der mich für das wissenschaftliche Arbeiten begeisterte, zur Durchführung einer experimentellen Arbeit motivierte und diesem Projekt mit Rat und Tat zur Seite stand.

Weiterhin danke ich Frau Prof. Dr. I. Bittmann vom Institut für Pathologie der LMU München für die histologische Beurteilung, Dr. J. Peters für die fachkundige Unterstützung bei der statistischen Auswertung und Dr. P. Göhring für die laborchemischen Serumanalysen.

Ich danke ausdrücklich allen Mitarbeitern des Institutes für Chirurgische Forschung. Hervorheben möchte ich Frau S. Münzing aufgrund ihrer großartigen fachlichen und menschlichen Unterstützung bei der Durchführung der Experimente sowie Frau A. Schropp und Frau B. Blount.

Den Tierpflegern des Instituts für Chirurgische Forschung der LMU München möchte ich für die fachgerechte Betreuung der Tiere danken.

Abschließend danke ich von ganzem Herzen meiner Familie und Frau Gesa Vock für ihre einzigartige Unterstützung.