

Aus der Klinik für Anästhesiologie der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. B. Zwissler

**Einfluss der ischämischen Präkonditionierung auf die
Purinplasmakonzentrationen vor und nach Anwendung des Pringle-Manövers
zur Leberteileresektion: eine prospektiv randomisierte klinische Studie**

Dissertation

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

vorgelegt von

André Martino Martignoni

aus

Augsburg

2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. M. Thiel
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. med. M. Sperandio Priv. Doz. Dr. med. M. Rentsch
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. A. Choukèr
Dekan:	Prof. Dr. med. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	08.11.2007

Für Toni und Luis

Inhaltsverzeichnis

- 1. Einleitung**
- 2. Fragestellung**
- 3. Material und Methodik**
 - 3.1. Patienten
 - 3.2. Studiengruppen
 - 3.3. Anästhesie und chirurgisches Vorgehen
 - 3.4. Abnahmemodalitäten
 - 3.5. Biochemische Parameter
 - 3.5.1. Bestimmung der Plasmapurine
 - 3.5.2. Bestimmung von Laktat im Plasma
 - 3.5.3. Leberfunktionsparameter
 - 3.6. Statistische Auswertung
- 4. Ergebnisse**
 - 4.1. Patientenspezifische und intraoperative Daten
 - 4.2. Plasmakonzentrationen der Purine und des Laktats vor und nach Präkonditionierung
 - 4.2.1. Purine
 - 4.2.2. Laktat
 - 4.3. Plasmakonzentrationen der Purine und des Laktats vor und nach Pringlemanöver
 - 4.3.1. Purine
 - 4.3.1.1. Berechnete Purinkonzentrationsdifferenzen zwischen dem portalvenösen und arteriellen Blut
 - 4.3.2. Laktat
 - 4.4. Leberfunktion und hepatozellulärer Schaden

5. Diskussion

- 5.1. Hepatische Präkonditionierung und Adenosin
- 5.2. Effekte der ischämischen Präkonditionierung auf Parameter des Energiestoffwechsels und der Leberzellschädigung
- 5.3. Methodenkritik
- 5.4. Auswirkungen der ischämischen Präkonditionierung der Leber auf den Darm
- 5.5. Klinisches Modell und Effektivität der ischämischen Präkonditionierung
- 5.6. Therapeutischer Ausblick

6. Zusammenfassung

7. Abkürzungen

8. Zeitschriftenverzeichnis

9. Literaturverzeichnis

10. Veröffentlichte Teilaspekte

11. Danksagung

12. Curriculum vitae

1. Einleitung

Die Leberteilektomie ist das am häufigsten gewählte Verfahren zur Behandlung von malignen¹ (z.B. Metastasen eines colorectalen Adenokarzinoms oder hepatozellulären Karzinoms) als auch benignen^{2,3} (z.B. hepatozelluläre Adenome, Echinococcosis) Tumoren der Leber.

Um während einer Leberteilektomie das Operationsgebiet weitgehend blutarm zu halten und damit den Blutverlust zu reduzieren, wird oft das nach Pringle benannte Manöver angewendet.⁴⁻⁶ Dabei werden die Arteria hepatica und die Portalvene im Bereich des Ligamentum hepatoduodenale abgeklemmt. Durch die Unterbrechung der Blutversorgung wird die Leber zunächst einer warmen Ischämie (I), und nach Entfernung der Gefäßklemmen einer Reperfusion (R) unterworfen. Die hypoxisch-bedingten metabolischen Veränderungen während Ischämie und Reperfusion (I/R) können vor allem bei längerer Ischämiezeit der Leber (≥ 1 Stunde) zur Entwicklung eines Organversagens beitragen.⁷ Damit stellt die warme Ischämie ein potentiell gravierendes klinisches Problem dar, welches im Rahmen der Anwendung des Pringle-Manövers in Kauf genommen wird, um intraoperativ den Blutverlust zu reduzieren.⁶⁻⁸

Pathophysiologisch kommt es während der Phase einer warmen Ischämie, beispielsweise infolge des Pringle-Manövers, durch den Mangel an Sauerstoff zur Beeinträchtigung der aeroben Respiration. Die kompensatorische Steigerung der anaeroben Glykolyse reicht jedoch nicht aus, um die Energiehomöostase der Leberzellen aufrechtzuerhalten. Es folgt ein verstärkter Abbau von ATP über ADP zu AMP. Das in der Zelle bei Sauerstoffmangel vermehrt anfallende AMP kann durch die Abnahme der mitochondrialen Aktivität nicht rephosphoryliert werden, sodass es durch die gleichzeitige Zunahme der Aktivität der zytosolischen 5'-Endonukleotidase zu Adenosin dephosphoryliert wird. Das auf diesem Weg entstandene Adenosin wird seinerseits zu Inosin desaminiert und weiter zu den Purinen Hypoxanthin und Xanthin abgebaut. Zur Beurteilung der Schwere einer Ischämie können deshalb neben der bekannten Bestimmung der Laktatkonzentration auch die Konzentrationen der ATP-Abbauprodukte Adenosin, Inosin und der Purine Hypoxanthin und Xanthin als sensitive Parameter der Gewebeischämie herangezogen werden.⁹⁻¹³ Durch die Verarmung der Zelle an ATP wird zugleich die Aufrechterhaltung der H^+ , Na^+ und Ca^{2+} -Ionen-Homöostase gefährdet. Durch aktive, d.h. ATP-abhängige Transport-

prozesse versucht die Zelle vor allem überschüssige Natriumionen zu entfernen, allerdings gelingt dies aufgrund der ischämisch bedingten ATP-Mangelsituation nicht ausreichend oder gar nicht. So verbleibt nur der passive Austausch von intrazellulärem Natrium gegen extrazellulär vorhandene Kalziumionen über den $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Antiporter mit der Folge des Anstiegs der ionisierten Ca^{2+} -Konzentration im Zytosol. Neben der transportabhängigen Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration verstärkt die Bildung reaktiver Sauerstoffradikale während der Reperfusion den intrazellulären Ca^{2+} -Anstieg. Die erhöhte Ca^{2+} -Konzentration in der Zelle hat schließlich einen erhöhten Ca^{2+} -Gehalt in den Mitochondrien zur Folge. Zusammen mit dem Abbau von ATP und dem damit verbundenen Anstieg an zytosolischen Phosphationen (P_i) führt dies zu einer Öffnung von so genannten „permeability transition“ (PT)-Poren in der mitochondrialen Membran.¹⁴ Dabei handelt es sich um Poren, die durchlässig für Moleküle von weniger als 1500Da Molekulargewicht sind.¹⁵ Durch die Öffnung der PT-Poren kommt es zu einer weiteren Hydrolyse von ATP, dem Verlust der mitochondrialen ATP-Synthese, zur Schwellung der Mitochondrien, sowie zum Aufbrechen der äußeren Mitochondrienmembran. Dadurch gelangt Cytochrom C aus den Mitochondrien in das Zytosol und bildet zusammen mit dem „apoptosis-activating-factor-1“, ATP und Procaspase 9 einen Komplex, der Procaspase 3 aktiviert und damit den Prozess der Apoptose (programmierter Zelltod) einleitet. Bei ausgeprägtem ATP-Mangel kann die ATP abhängige Aktivierung apoptotischer Signalwege nicht mehr stattfinden und es tritt dann der Zelltod in Form der Nekrose ein. Dabei ist die Unterscheidung zwischen Apoptose und Nekrose (Zellzerfall) nicht immer möglich, so dass der Begriff der Nekrapoptose eingeführt wurde.¹⁶

In der Phase der Reperfusion wird Sauerstoff wieder verfügbar und die im Rahmen der Ischämie gebildeten Metabolite Hypoxanthin und Xanthin können durch die Xanthinoxidase/reduktase zu Superoxidanionen oxidiert werden. Superoxidanionen stellen dabei das Ausgangsprodukt für die Bildung eines breiten Spektrums an reagiblen Sauerstoffspezies dar, die komplexe inflammatorische Reaktionen auslösen können. So werden die primär metabolischen Störungen durch sekundäre inflammatorische Reaktionen erheblich verstärkt. Initial tragen dazu auch aktivierte Kupfferzellen bei, die ebenfalls Sauerstoffradikale, NO und auch andere proinflammatorische Mediatoren bilden (zum Beispiel Zytokine wie $\text{TNF-}\alpha$, Interleukin (IL)-6, IL-1 β , MCP-1, IL-12 oder Chemokine aus der CXC-Gruppe). Die freigesetzten

Zytokine führen zu einer gesteigerten Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche der sinusoidalen Endothelzellen (vascular adhesion molecule 1 - VCAM-1; intercellular adhesion molecule 1 - ICAM-1), sowie auf der Oberfläche (β_2 -Integrine) von polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMN). Durch die Interaktion der Adhäsionsmoleküle auf der Oberfläche der PMN und des Endothels kommt es zu einem „rolling“ der PMN entlang des Endothels, gefolgt von der Adhäsion, der Emigration und schließlich der Sequestrierung der PMN in das Leberparenchym. Die Folge einer Freisetzung zytotoxischer Produkte (reaktive Superoxidanionen, Proteasen) aus den aktivierten und ausgewanderten PMN ist eine massive Schädigung der Hepatozyten.¹⁷

Basierend auf diesen Kenntnissen zur Pathogenese des Ischämie/Reperfusionsschadens zielen experimentellen Konzepte zur Prävention auf die Unterbrechung einzelner inflammatorischer Reaktionen ab und beinhalten die Gabe von Antikörpern gegen Zytokine und deren Rezeptoren (Anti-TNF- α , Anti-IL-1-Rezeptor), sowie gegen spezifische Adhäsionsmoleküle (Anti-ICAM-1). Auch die Anwendung von Antioxidantien wie Superoxiddismutase oder von Gluthathion sollen den Ischämie/Reperfusionsschaden reduzieren.¹⁸

Neben solchen, auf einzelne Mediatoren gerichteten präventiven Ansätzen, stellt die ischämische Präkonditionierung ein Phänomen dar, das auf der Aktivierung endogener protektiver Mechanismen beruht. Bei der ischämischen Präkonditionierung führt eine oder mehrere kurze Phasen einer Ischämie zu einer Protektion gegenüber einer nachfolgenden lang andauernden potentiell organschädigenden Ischämie. Murry et al beschrieben dieses Phänomen erstmals am Myocard¹⁹. Eine organprotektive Wirkung für das Gehirn²⁰, den Muskel²¹ und die Leber²²⁻²⁷ konnte ebenfalls nachgewiesen werden. Die Wirksamkeit der ischämischen Präkonditionierung wurde bislang hauptsächlich in Tiermodellen an Ratten und Mäusen erforscht, konnte allerdings vor kurzem auch beim Menschen beispielsweise für die Leber aufgezeigt werden.²⁷ Am besten ist das Phänomen der ischämischen Präkonditionierung am Herzen charakterisiert. Dabei wurde gezeigt, dass eine vorübergehende myokardiale Ischämie und die anschließende Reperfusion eine Reihe von Metaboliten freisetzt, für die eine Mediatorfunktion bei der ischämischen Präkonditionierung nachgewiesen wurde. Wie bei einer langandauernden schweren Ischämie führt auch eine kürzere Ischämie zu einem Abbau von Adeninnukleotiden mit der Bildung von Adenosin. Neben anderen

Mediatoren wie NO, Sauerstoffradikale, Bradykinin, Noradrenalin und Prostaglandine²⁹ wurde vor allem für Adenosin eine herausragende Bedeutung für die Induktion der Gewebeprotektion durch die ischämische Präkonditionierung des Herzens postuliert.³⁰

Eine Beteiligung von Adenosin und Adenosinrezeptoren an der hepatischen Präkonditionierung wurde erstmals von Peralta et al. bei der Ratte nachgewiesen.^{31,32} Im Gegensatz dazu liegen für den Menschen bis heute keine Forschungsergebnisse vor.

Ziel der vorliegenden klinischen Studie war es daher, zu prüfen, ob die Leber des Menschen ischämisch präkonditioniert werden kann und welche Rolle dabei die Bildung von Adenosin spielt. Im Einzelnen sollten nachfolgende Fragen beantwortet werden.

2. Fragestellung

- A) Können bereits während der kurzen Phase einer ischämischen Präkonditionierung erhöhte Konzentrationen von Adenosin und seiner Abbauprodukte im Plasma der Patienten nachgewiesen werden?
- B) Kann durch die ischämische Präkonditionierung die gesteigerte Bildung von Laktat und von Purinen, wie sie in Folge des Pringle-Manövers als Ausdruck einer länger andauernden warmen Ischämie zu erwarten ist, reduziert werden?
- C) Welchen Einfluß hat die ischämische Präkonditionierung auf die postoperative Leberzellintegrität und Funktion der Leber?

3. Material und Methodik

3.1. Patienten

Im Zeitraum von März 1999 bis August 2000 wurden am Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München alle Patienten, die für eine elektive Leberteileresektion vorgesehen waren, für die Teilnahme an dieser Studie ausgewählt. Die Einschlusskriterien waren: die geplante Operation umfasst ausschließlich die Resektion hepatischer Tumoren; ein „American Society of Anesthesiologist' Physical Status (ASA-PS) von 1 bis 3 und der Patient ist älter als 18 Jahre. Gründe für den Ausschluss von der Studie waren die Diagnose weiterer, nicht hepatischer Tumoren vor dem Eingriff und der Befund oder die Annahme einer schweren Steatose oder einer Zirrhose der Leber.

Nach Aufnahme in die Studie wurden die Patienten per Los zu einer der drei Studiengruppen zugeteilt. Hierfür wurden für jeden Patienten präoperativ drei mit NPR, PR und IPC beschriftete Lose in Briefumschlägen bereitgestellt und daraus jeweils Eines blind gezogen. Von den 99 Studienteilnehmern wurden 28 zur Gruppe 1 (NPR, Non-Pringle), 33 zur Gruppe 2 (PR, Pringle) und 38 zur Gruppe 3 (IPC, Ischämische Präkonditionierung) zugeteilt (siehe auch Erläuterung der Studiengruppen Punkt 3.2.). Während der Operation mussten einige Patienten aus chirurgischen Gründen von ihrer ausgelosten Studiengruppe zu einer anderen Gruppe umrandomisiert werden. So wechselten zwei Patienten der NPR-Gruppe zur PR-Gruppe, drei Patienten der PR- sowie zwei Patienten der IPC-Gruppe zur NPR-Gruppe. Weitere Patienten wurden von der Studienteilnahme aufgrund intraoperativ aufgetretener Komplikationen ausgeschlossen, unter anderem wegen einer notwendigen Kortikosteroidgabe nach schwieriger Intubation und einer intraoperativ festgestellten Leberzirrhose. Darüber hinaus wurden Patienten ausgeschlossen, bei denen weitere chirurgische Eingriffe (z.B. Anlage einer biliodigestiven Anastomose) vorgenommen werden mussten. Unvorhergesehene intraoperative Ereignisse, wie massive Hämorrhagie mit konsekutiver Massivtransfusion, führten ebenso zum Ausschluss. So wurden von den ursprünglich 99 randomisierten Patienten 75 Patienten analysiert. Die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München prüfte und genehmigte das Studienprotokoll. Alle Patienten hatten ihre Teilnahme an der Studie nach ausführlicher Information schriftlich erklärt.

3.2. Studiengruppen

Gruppe 1: **Non-PR**ingle (NPR, n=25).

In dieser Gruppe erfolgte die Leberteilresektion ohne Unterbrechung der zur Leber führenden Gefäße.

Gruppe 2: **PR**ingle (PR, n=25).

In dieser Gruppe wurde die Leberteilresektion mit Unterbrechung des Blutflusses in der A. hepatica und V. portae (Pringle-Manöver) auf Höhe des Lig. hepatoduodenale durchgeführt.

Gruppe 3: **Ischämische-Präk(C)**onditionierung (IPC, n=25).

Wie in der Gruppe 2 erfolgte die Leberteilresektion unter Anwendung eines Pringle-Manövers. Zwanzig Minuten vor dem Beginn der Resektion wurde die Leber jedoch ischämisch präkonditioniert, in dem die Lebergefäße für zehn Minuten abgeklemmt und anschließend für weitere zehn Minuten reperfundiert wurden (Übersicht siehe Abbildung 1).

3.3. Anästhesie und chirurgisches Vorgehen

Die Anästhesie wurde bei allen Patienten gemäß eines standardisierten Protokolls durchgeführt. Nach Anlage eines thorakalen Periduralkatheters und der Applikation einer Testdosis von Carbostesin 0,5% zur Überprüfung einer eventuellen spinalen Katheterfehlage wurde die Allgemeinanästhesie durch die Injektion von einer an das Körpergewicht (KG) angepassten Dosis von Thiopental (3-4,5 mg/kg KG), Cis-Atracurium (0,05 mg/kg KG) und Fentanyl (3-4 µg/kg KG) eingeleitet. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte unter Normoventilation mit einem 50%igen Sauerstoff/Luft-Gemisch und Zufuhr von Desfluran (5-6 Volumen%). Der Periduralkatheter wurde zur perioperativen Analgesie fraktioniert mit Carbostesin 0,5% bestückt. Der zentralvenöse Druck wurde mit Hilfe eines in die Vena jugularis interna eingeführten Katheters erfasst; seine Lagekontrolle erfolgte mittels EKG. Der arterielle Blutdruck wurde nach Kanülierung der Arteria radialis direkt gemessen. Die Betreuung aller Studienpatienten erfolgte durch ein erfahrenes Team, bestehend aus

drei Viszeralchirurgen und zwei Anästhesisten. Nach der Laparotomie wurden der Operationssitus und der Leberhilus in allen drei Gruppen in gleicher Weise präpariert. Während der Resektion wurde die Blutzufuhr zur Leber in der PR- und IPC-Gruppe durch das Anlegen eines Mersilenebandes um das Lig. hepatoduodenale unterbrochen. In der NPR-Gruppe wurde das Mersileneband angelegt, jedoch nicht zugezogen. Die Resektion des Lebergewebes begann in der NPR-Gruppe unverzüglich nach der Präparation bzw. nach Beginn des Pringle-Manövers in der PR- und der IPC-Gruppe. Die Trennung des Leberparenchyms von den Lebergefäßen wurde mit einem Wasserstrahl-Dissektor vorgenommen. Größere Gefäße wurden mit Metallclips ligiert. Die Wundfläche wurde ausgemessen und das Volumen des Resektats durch Verdrängung von Wasser aus einem Behälter bestimmt.

3.4. Abnahmemodalitäten

Bei allen Patienten erfolgte einen Tag vor der Operation (Pre OP) sowie am ersten (24h PO) und zweiten postoperativen Tag (48h PO) die Abnahme einer Blutprobe zur Bestimmung von Blutbild, Elektrolyten, Parameter der Leberzellschädigung und Gerinnungswerte (AST, ALT, Quick, pTT, bzw. Faktor V als Werte für die Syntheseleistung der Leber) (Abbildung 1).

Unmittelbar nach Einleitung der Narkose wurde Blut zentralvenös abgenommen (Pre). Ferner wurde Blut arteriell, zentralvenös und portalvenös 3, 15 und 30 Minuten nach Wiedereröffnen der Blutversorgung der Leber entnommen (3', 15' und 30'). In der IPC-Gruppe erfolgten zwei zusätzliche Abnahmen arteriell, zentralvenös und portalvenös kurz nach der 10 minütigen Präkonditionierungsphase (post PC) und unmittelbar vor dem erneuten Abklemmen zur Resektion (pre PR). Weitere Blutproben wurden 2, 24 und 48 Stunden nach Beendigung der Resektion (NPR-Gruppe), bzw. nach Reperfusion (PR- und IPC-Gruppe) entnommen.

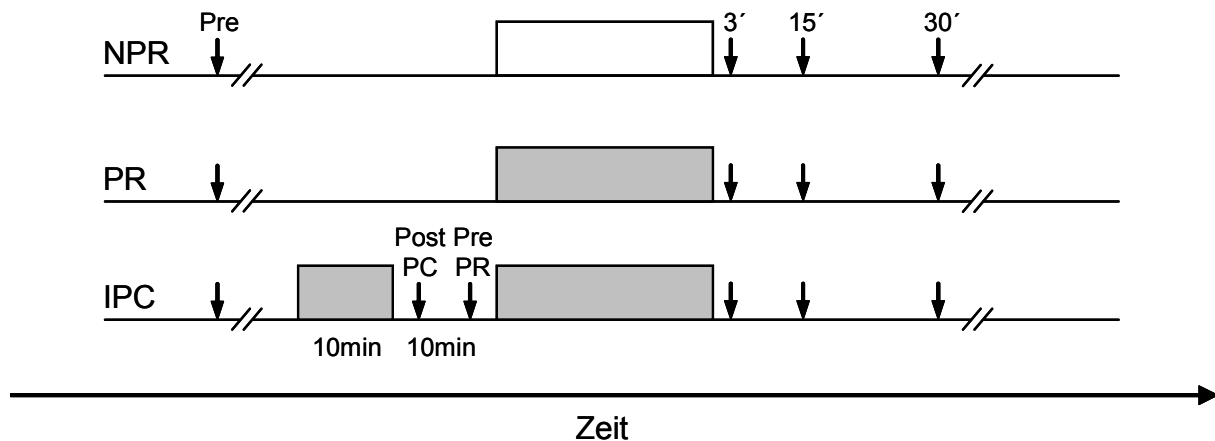


Abbildung 1. Studienprotokoll und intraoperative Abnahmezeitpunkte.

NPR: Non-Pringle, PR: Pringle, IPC: ischämische Präkonditionierung. Blutabnahmen erfolgten in allen drei Patientengruppen präoperativ (Pre). In der IPC-Gruppe wurde Blut innerhalb 1 Minute nach Beendigung der ischämischen Präkonditionierung (post PC) und unmittelbar vor dem Pringle-Manöver (pre PR) abgenommen. Weitere Blutproben wurden 3, 15 und 30 Minuten nach Beendigung der Resektion oder der Wiedereröffnung der Blutversorgung gewonnen. Blutabnahmen erfolgten zu den angegebenen Zeitpunkten arteriell, zentralvenös und portalvenös. Weißer Balken: Resektion ohne Ischämie; graue Balken: Ischämie der Leber während der Präkonditionierung oder des Pringle-Manövers.

3.5. Biochemische Parameter

3.5.1. Bestimmung der Purine im Plasma

Hierzu wurde jeweils 2 ml Blut über einen liegenden ZVK, einen arteriellen Katheter und direkt aus der Portalvene über eine 20G Stahlkanüle in eine 5 ml Spritze aspiriert, in der sich 2 ml einer eiskalten Stopp-Lösung mit folgenden Substanzen befanden:

Dipyridamol (Persantin, Dr. Karl Thomae. GmbH, Deutschland) 200µM, EDTA-Na₂ (FLUKA, Sigma-Aldrich Chemie, Deutschland) 20 mM, EHNA 20 µM, EGTA 20 mM, DL-α-Glycerophosphat 20 mM, 2-Chloro-Adenosin 1 mM, N⁽⁶⁾-Methyl-Adenosin 1 mM (alle genannten Chemikalien wurden von Sigma-Aldrich Chemie, Deutschland bezogen).

Die oben genannten Substanzen hemmen Ektonukleotidasen und unspezifische Phosphatasen und verhindern die Bildung zusätzlicher Purine aus dem Abbau von Adeninnukleotiden, die z.B. aus Thrombozyten freigesetzt werden können. Zusätzlich wird der weitere Abbau von Adenosin oder dessen Stoffwechselprodukten blockiert. Ferner wird die Entfernung von Adenosin und Inosin

aus dem Plasma durch Hemmung der Aufnahme in Erythrozyten verhindert.

Die Plasmakonzentrationen von Adenosin und Inosin wurden durch „dual-column switching high affinity performance / reversed phase high performance liquid chromatography“ Technik unter Verwendung einer „internal surface nitrophenylboronic acid precolumn“ analysiert.³³ Die Purinbasen Hypoxanthin und Xanthin wurden mittels „reversed phase high performance liquid chromatography“ bestimmt.³⁴ Folgende Geräte der Firma Waters (Milford, USA) wurden hierzu im Labor der Klinik für Anästhesiologie verwendet: Autosampler Modell 717 plus, HPLC pump Modell 510 und ein Tunable Absorbance Detektor 486. Die Nitrophenylboronsäuregruppe tragende Vorsäule wurde selbst gepackt. Das dafür erforderliche Material stellte freundlicherweise Herr Professor Boos (Klinische Chemie, Klinikum Großhadern) zur Verfügung. Die Vor- und Trennsäulen wurden von der Fa. Merck, Deutschland bezogen (Trennmaterial: LiChrosphere®100 RP-18, Porengröße 5µm). Die Auswertung wurde mit Hilfe des Millennium Chromatography Managers der Firma Waters (Milford, USA) vorgenommen.

3.5.2. Bestimmung von Laktat im Plasma

Die Bestimmung der Plasma-Laktatkonzentrationen erfolgte amperimetrisch mittels einer Laktatoxidase vermittelten Oxidation. Zur Anwendung kam ein Blutgasanalysator der Firma Radiometer (ABL 700, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark).

3.5.3. Leberfunktionsparameter

Die postoperative Leberfunktion und die hepatozelluläre Integrität wurde anhand routinemässiger Laborparameter (Gesamt-Bilirubin, Prothrombinzeit (Quick), partielle Thromboplastinzeit (pTT), Faktor V, Pseudocholinesterase und Leberenzyme Alaninaminotransferase (ALT), Aspartataminotransferase (AST)) überwacht.

3.6. Statistische Auswertung

Die Überprüfung der Ergebnisse auf Normalverteilung erfolgte anhand des Ein-Proben-Kolmogorow-Smirnov-Test. Demographische und chirurgische Daten waren normalverteilt und wurden daher auf gruppenspezifische Unterschiede durch ANOVA („analysis of variance“) und post-hoc unpaired T-Test überprüft. Die Analyse geschlechtsspezifischer Unterschiede erfolgte durch den χ^2 -Test. Da die übrigen Variablen nicht normalverteilt waren, kamen parameterfreie Tests zur Anwendung. Mehrfachvergleiche innerhalb der Gruppen wurden anhand des Friedman- und post-hoc Wilcoxon-Test vorgenommen. Vergleiche zwischen den Gruppen wurden durch Kruskal-Wallis-Test und post-hoc Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Um eine Beziehung zwischen den Parametern des Leberzellschadens und den Purinplasmakonzentrationen zu überprüfen, wurden parameterfreie nichtlineare Analysen zur Bestimmung von Korrelationen nach Spearman-Rho angewendet. Alle Analysen erfolgten zweiseitig. Ein p-Wert unter 0,05 wurde als signifikant erachtet. Für die statistische Auswertung wurde das SPSS-Programm verwendet (SPSS/PC+, Version 10.0, SPSS Inc., Chicago, USA).

4. Ergebnisse

4.1. Patientenspezifische und intraoperative Daten

Die statistische Analyse ergab keine signifikanten Unterschiede bezüglich demographischer Parameter. Das mittlere Alter und das Verhältnis Männer zu Frauen war in allen drei Gruppen vergleichbar (siehe Tabelle 1). In der postoperativen Auswertung der chirurgischen Daten fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der NPR, PR und IPC Gruppe in der Verteilung der zugrunde liegenden Diagnosen, resezierten Lebersegmente und Resektatvolumina. Insbesondere die Resektionszeit ist in allen drei Gruppen vergleichbar, ebenso die Dauer des durchgeführten Pringle-Manövers in den Gruppen mit Pringle und ischämischer Präkonditionierung (Tabelle 1).

	NPR	PR	IPC
Alter (Jahre)	61,9±2,1	56,3±2,2	55,7±2,9
Resektion			
Resektatvolumen (ml)	351±104	356±61	392±70
Resektionszeit (min)	39,0±4,5	33,2±2,3	32,5±2,0
Pringlezeit (min)		35,6±2,6	35,5±2,7

Tabelle 1. Patientencharakteristika und operationsspezifische Daten. Mittelwerte ± SEM, n=25 pro Gruppe.

4.2. Plasmakonzentrationen der Purine und des Laktats vor und nach Präkonditionierung

4.2.1 Purine

Vor der Präkonditionierung waren die Plasmakonzentrationen von Adenosin in den zentralvenösen, arteriellen und portalvenösen Blutproben statistisch nicht signifikant unterschiedlich. Kurz nach Ende der Präkonditionierung (post IPC) kam es nur im portalvenösen Blut zu einem Anstieg der Adenosinplasmawerte, deren Veränderung gegenüber den Ausgangswerten jedoch kein Signifikanzniveau erreichte. Inosin, Hypoxanthin und Xanthin konnten hingegen mit signifikant erhöhten Werten im Plasma an allen Abnahmeorten nachgewiesen werden (Abbildung 2).

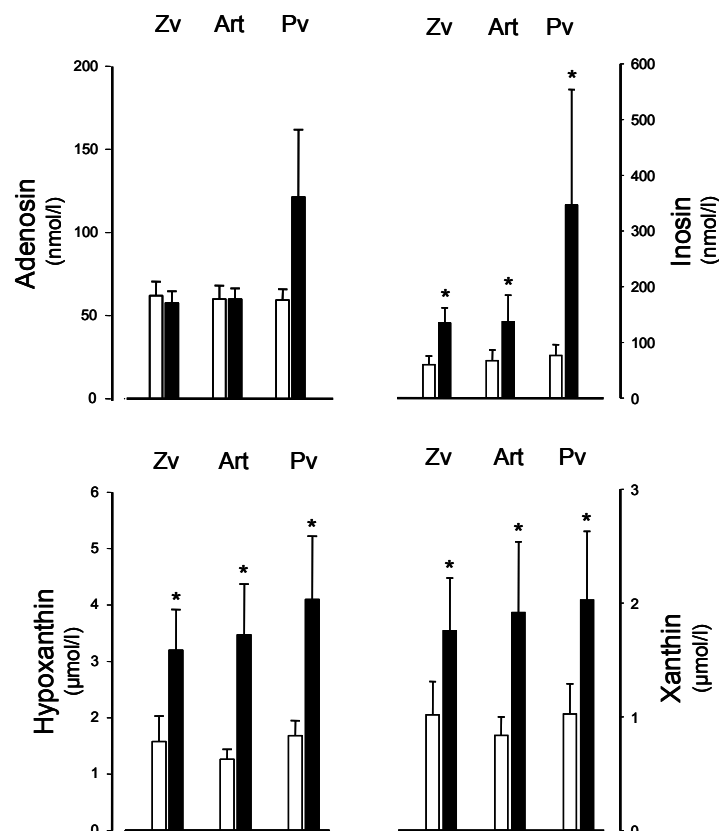


Abbildung 2: Zentralvenöse (Zv), arterielle (Art) und portalvenöse (Pv) Plasmakonzentrationen von Adenosin, Inosin, Hypoxanthin und Xanthin vor (offene Säulen) und nach (schwarze Säulen) ischämischer Präkonditionierung. Die ischämische Präkonditionierung erfolgte durch 10 minütiges Abklemmen der Portalgefäße, gefolgt von 10 Minuten Reperfusion. Die Abnahmen wurden innerhalb der ersten 60 Sekunden der Reperfusion (post IPC) aus den jeweiligen Gefäßen durchgeführt. Angegeben sind die Mittelwerte \pm SEM, $n = 21-23$. *: $p < 0,05$ im Vergleich zu den Werten vor Präkonditionierung, Wilcoxon-Test.

4.2.2. Laktat

Die Plasmalaktatkonzentrationen stiegen nach der Präkonditionierung sowohl im zentralvenösen, wie auch im portalvenösen Blut signifikant an (Tabelle 2).

Laktat (mmol/l)			
	zentralvenös	portalvenös	
vor	1,10±0,07	1,09±0,07	(n=25, p<0,05)
nach	1,76±0,10*	1,86±0,11*	(n=25, p<0,05)

Tabelle 2. Zentral- und portalvenöse Plasmalaktatkonzentrationen vor und nach Präkonditionierung. Mittelwerte ± SEM, n=25 pro Abnahmeort und Zeitpunkt. *: p<0,05 im Vergleich zu den Werten vor Präkonditionierung, Wilcoxon-Test.

4.3. Plasmakonzentrationen der Purine und des Laktats vor und nach Pringle-Manöver

4.3.1. Purine

Nach ischämischer Präkonditionierung normalisierten sich die Werte von Inosin, Hypoxanthin und Xanthin im Plasma. Die Plasmakonzentrationen der Purinnukleoside und -basen in der IPC-Gruppe waren daher nicht unterschiedlich von den Konzentrationen in den beiden anderen Gruppen vor Resektion beziehungsweise vor dem Pringle-Manöver (Abbildung 3, Zeitpunkt Pre PR). In der NPR-Gruppe stiegen im weiteren Verlauf lediglich die arteriellen und portalvenösen Werte für Hypoxanthin minimal an. Alle anderen Plasmapurine blieben unverändert. Patienten der PR-Gruppe zeigten einen massiven Anstieg aller Purine, insbesondere drei Minuten nach Beginn der Reperfusion. Bei Patienten aus der IPC Gruppe konnte ebenfalls ein Anstieg der Plasmapurinkonzentration beobachtet werden, der allerdings weniger ausgeprägt war. Diese Abschwächung war am deutlichsten in der frühen Reperfusionsphase zu den Abnahmezeitpunkten 3 und 15 Minuten und erreichte statistische Signifikanz zwischen der PR und der IPC Gruppe für Inosin und Hypoxanthin im portalvenösen Plasma. Die Adenosinplasmakonzentrationen veränderten sich in keiner der untersuchten Patientengruppen signifikant (Daten nicht gezeigt).

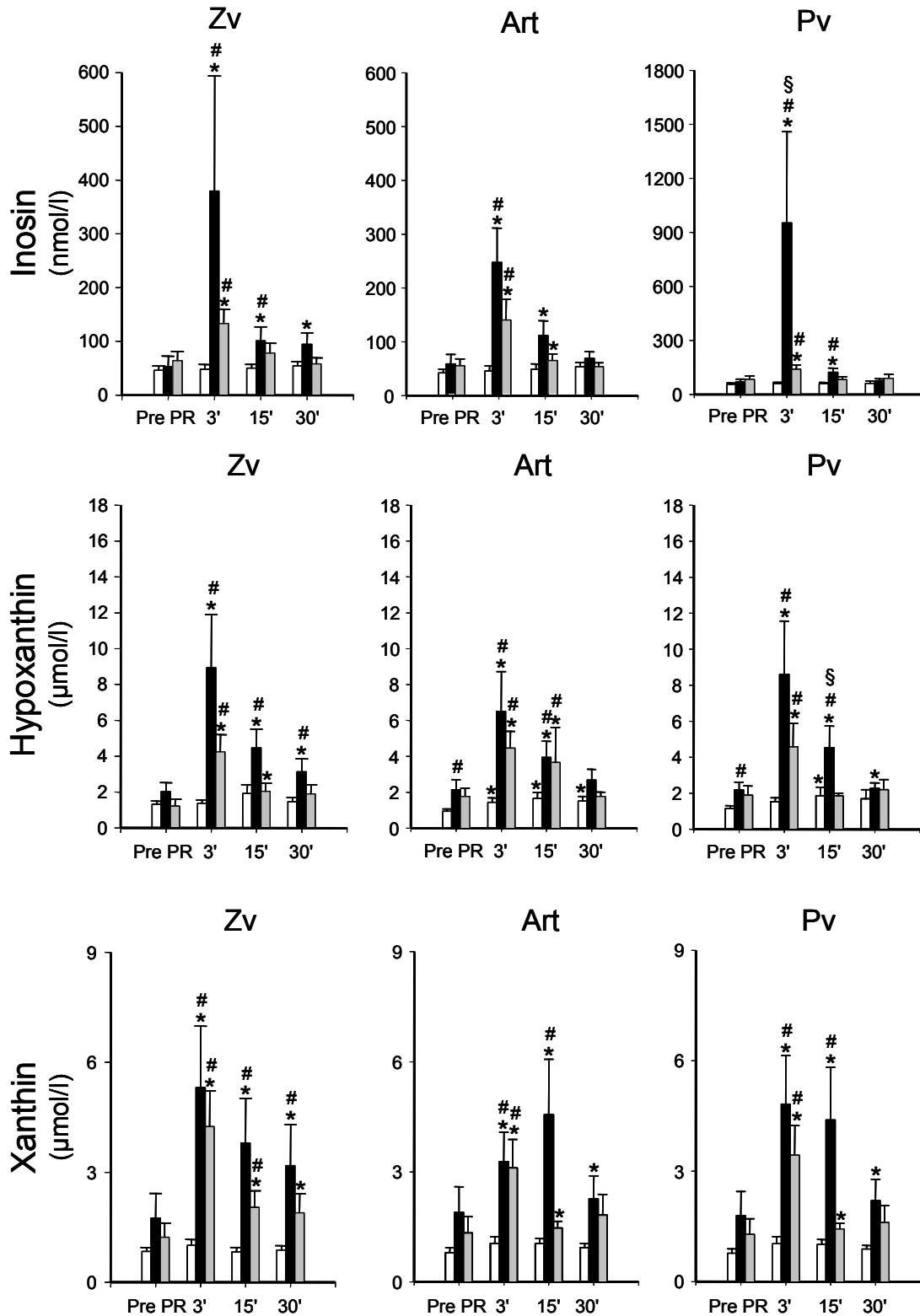


Abbildung 3. Zentralvenöse (Zv), arterielle (Art) und portalvenöse (Pv) Plasmakonzentrationen von Inosin, Hypoxanthin und Xanthin vor und nach Leberteilresektion ohne (weiße Säulen, NPR-Gruppe) und mit Pringle-Manöver (schwarze Säulen, PR-Gruppe) bzw. Pringle mit vorausgegangener ischämischer Präkonditionierung (graue Säulen, IPC-Gruppe). Erläuterung der Abnahmezeitpunkte: siehe Abbildung 1. Mittelwerte \pm SEM, n = 16-23, *: p < 0,05 vs. Pre, Friedman and post-hoc Wilcoxon-Test. #: p < 0,05 vs. NPR. §: vs. IPC, Kruskal-Wallis-Test und post-hoc Mann-Whitney-Test.

4.3.1.1. Berechnete Purinkonzentrationsdifferenzen zwischen dem portalvenösen und arteriellen Blut

Während des Pringle-Manövers ist die Unterbrechung der Blutzufuhr zur Leber durch Abklemmung der Portalvene mit einem Rückstau portalvenösen Blutes verbunden. Um die mit Beginn der Reperfusion stattfindende Ausschwemmung von Purinmetaboliten aus dem Darmgewebe abschätzen zu können, wurden von den im portalvenösen Blut gemessenen Purinkonzentrationen die zeitgleich im arteriellen Blut bestimmten Konzentrationen abgezogen.

Es konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich der untersuchten portalvenös - arteriellen Purinkonzentrationsdifferenzen vor der Durchführung des Pringle-Manövers bzw. vor Beginn der Resektion festgestellt werden. Während der Reperfusion wurde die Differenz aus den portalvenösen und den arteriellen Werten für Inosin und Hypoxanthin in der PR Gruppe positiv und zeigte somit die Ausschwemmung von Adenosinabbauprodukten aus dem Darmgewebe nach Ischämie an. Diese Differenz war im Vergleich zu Patienten aus der NPR Gruppe ohne Ischämie der Leber signifikant erhöht. Hingegen zeigte sich für die Patienten mit IPC im Vergleich zur Kontrollgruppe kein statistisch signifikanter Unterschied in der Differenz der portalvenösen-arteriellen Purinkonzentrationen (Abbildung 4).

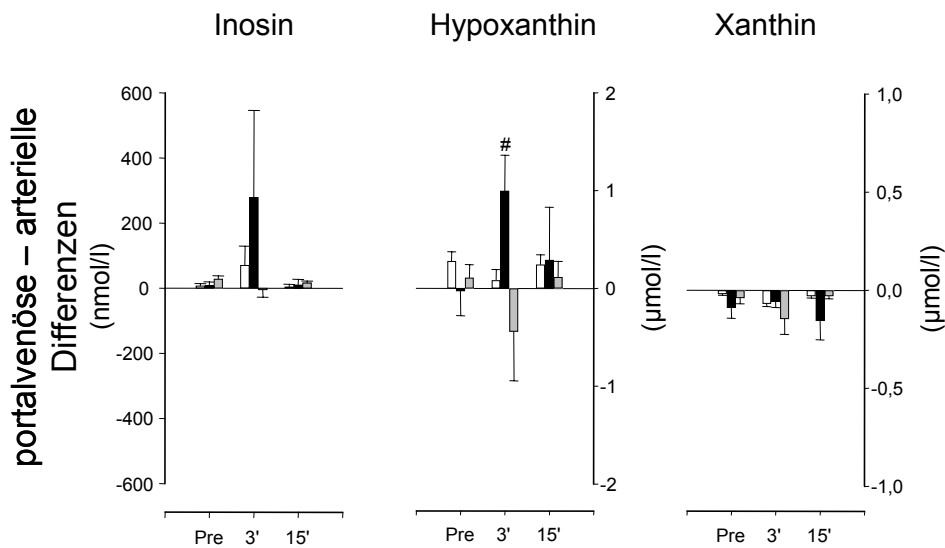


Abbildung 4. Portalvenöse minus arterielle Konzentrationsdifferenzen im Plasma. Mittelwerte \pm SEM, n=14-19. Für weitere Erklärungen siehe Legende zu Abbildung 3.

4.3.2. Laktat

In allen Gruppen wurden die Laktatkonzentrationen im zentralvenösen und portalvenösen Blut bestimmt. Im Verlauf stiegen in der NPR Gruppe die Laktatwerte gegenüber dem Zeitpunkt vor Beginn der Resektion signifikant an, mit den höchsten Werten im zentralvenösen Blut nach 2 Stunden (Tabelle 3). Zwischen der NPR- und PR-Gruppe zeigte sich kein Unterschied in den zentralvenösen Laktatwerten vor Beginn der Resektion. Vor dem Beginn des Pringle-Manövers waren als Folge der Präkonditionierung in der IPC-Gruppe die zentralvenösen Laktatkonzentrationen signifikant höher als in der PR-Gruppe. Im weiteren Verlauf stiegen in der frühen Reperfusionphase sowohl in der PR- als auch in der IPC-Gruppe die Laktatwerte an, wobei zu allen Zeitpunkten die höchsten Konzentrationen in der PR-Gruppe beobachtet wurden, die jedoch keine statistische Signifikanz gegenüber den Werten der IPC Gruppe erreichten. Betrachtet man allerdings den absoluten Anstieg im Plasma vor und nach dem Pringle-Manöver, das heißt subtrahiert man von den Laktatkonzentrationswerten 3 Minuten nach dem Beginn der Reperfusion die Werte zum Zeitpunkt „Pre“, so findet sich für den Vergleich der berechneten Konzentrationsdifferenzen eine signifikant geringere Zunahme in der IPC-Gruppe gegenüber der PR Gruppe sowohl im zentralvenösen als auch im portalvenösen Blut.

	NPR	PR	IPC
Zentralvenöses Blut			
Vor Resektion / Pringle	1,18±0,11	1,20±0,11	1,50±0,10 [§]
3´	1,43±0,17 [*]	2,47±0,22 ^{*#}	2,33±0,14 ^{*#}
15´	1,38±0,17 [*]	2,27±0,23 ^{*#}	1,97±0,16 ^{*#}
30´	1,35±0,20 [*]	2,12±0,22 [*]	1,95±0,17 ^{*#}
2h	1,65±0,17 [*]	2,33±0,28 ^{*#}	1,97±0,16 ^{*#}
3´minus Pre	0,29±0,10	1,27±0,17 [#]	0,82±0,11 ^{#§}
Portalvenöses Blut			
Vor Resektion / Pringle	1,14±0,11	1,20±0,11	1,44±0,10
3´	1,52±0,18 [*]	2,68±0,27 ^{*#}	2,27±0,14 ^{*#}
15´	1,38±0,19 [*]	2,17±0,24 ^{*#}	1,97±0,17 ^{*#}
30´	1,41±0,13 [*]	2,14±0,27 ^{*#}	1,88±0,22 ^{*#}
3´minus Pre	0,34±0,12	1,54±0,24 [#]	0,86±0,13 ^{#§}

Tabelle 3. Mittelwerte ± SEM, n=25. *: p<0,05 vs. vor Resektion oder vor Pringle (Pre), Friedmann und post-hoc Wilcoxon-Test. #: p<0,05 vs. NPR. §: p<0,05 vs. PR, Kruskal-Wallis und post-hoc Mann Whitney-Test.

4.4. Leberfunktion und hepatozellulärer Schaden

Die im Serum gemessenen Aktivitäten der Alaninaminotransferase (ALT) und der Aspartataminotransferase (AST) wurden als Marker für den hepatozellulären Schaden herangezogen. Die präoperativ abgenommenen Blutproben dienten für die Bestimmung der Ausgangswerte und waren in allen Gruppen vergleichbar (Abbildung 5). In der Kontrollgruppe kam es zu einem operationsbedingten Anstieg der Serumaktivitäten von ALT und AST am ersten und zweiten postoperativen Tag. Durch das Pringle-Manöver trat eine weitere Erhöhung ein, die im Vergleich zu Patienten ohne Abklemmen der Portalgefäße statistische Signifikanz erreichte. Dieser Ischämie/Reperfusion bedingte Anstieg von ALT und AST blieb nach ischämischer Präkonditionierung aus, da in der IPC-Gruppe die postoperativ bestimmten Serumaktivitäten der Transaminasen gegenüber den Werten der NPR-Gruppe keinen statistisch signifikanten Unterschied erreichten. Darüber hinaus war die Serum-ALT-Aktivität in der IPC-Gruppe am zweiten postoperativen Tag signifikant niedriger als in der PR-Gruppe. Im Vergleich zur NPR-Gruppe verursachte das Pringle-Manöver einen Anstieg des Gesamtbilirubins im Serum, eine verlängerte Thromboplastinzeit und eine verringerte Faktor V-Aktivität. Diese Parameter der Leberfunktion wurden aber durch die ischämische Präkonditionierung nicht signifikant verbessert (Daten nicht gezeigt).

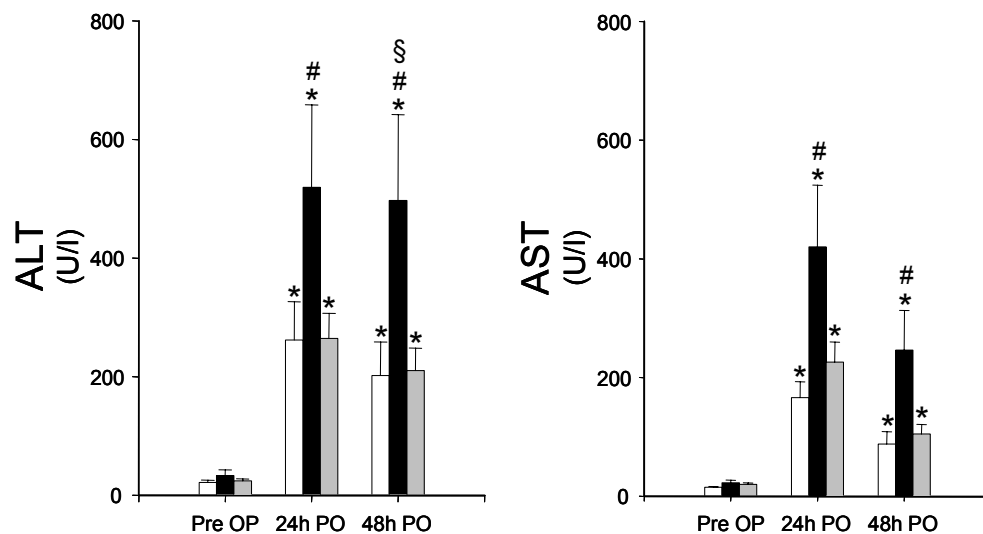


Abbildung 5. Serumaktivitäten der Alanin- (ALT) und Aspartat- (AST) aminotransferase vor OP (Pre OP), bzw. einen Tag (24h PO) und zwei Tage (48h PO) nach der Operation. Mittelwerte \pm SEM, n=21-23. Für weitere Erklärungen siehe Legende zu Abbildung 3.

5. Diskussion

5.1. Adenosin und hepatische Präkonditionierung

Während einer Ischämie wird die Bildung von ATP durch das geringere Angebot an Sauerstoff schnell reduziert und vorhandenes ATP wird vermehrt zu ADP und AMP abgebaut. Unter physiologischen, normoxischen Bedingungen werden diese Produkte durch die Adenosinkinase (AK) wieder zu ATP rephosphoryliert („salvage pathway“). Bei Hypoxie kommt es jedoch nicht nur zu einer Einschränkung der oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien, sondern auch zu einer Hemmung der Aktivität der AK und damit zu einer vermehrten Akkumulation von intrazellulärem Adenosin³⁵, das die Zelle über spezifische Nucleosidtransporter verlassen kann. Ebenso gelangt zytosolisches ATP durch membranständige Transporter in den Extrazellulärraum, um dort durch auf der Außenseite der Zellmembran lokalisierte Nucleotidasen zu Adenosin abgebaut zu werden. Sowohl intrazelluläres, als auch extrazelluläres Adenosin wird weiter zu Inosin und schließlich zu Hypoxanthin und Xanthin metabolisiert (Abbildung 6).

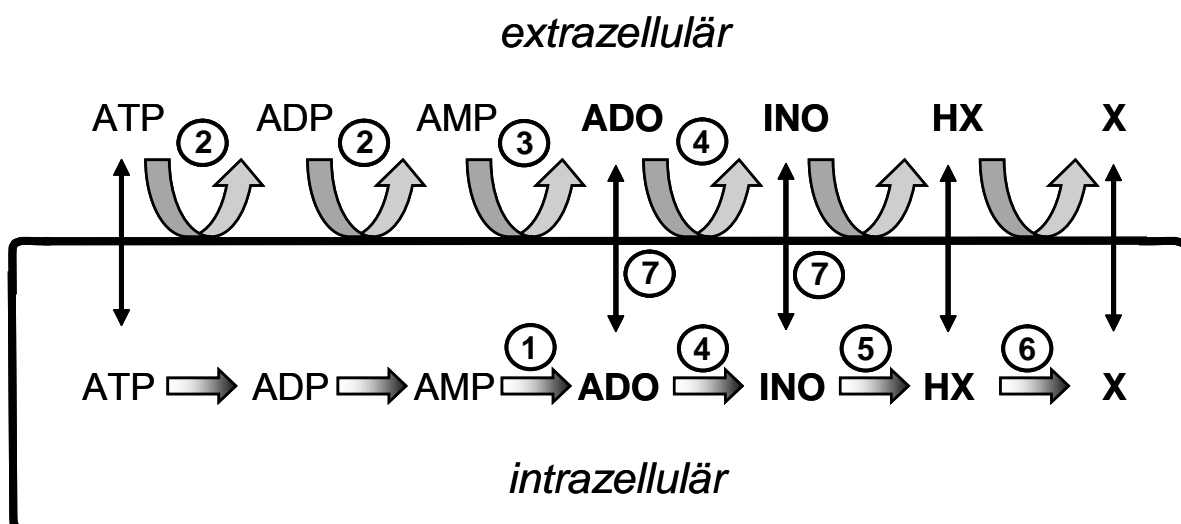


Abbildung 6. Überblick über die intra- und extrazellulären Transport- und Stoffwechselwege der Adeninnukleotide und Nucleoside.

1: Zytosolische 5'-Nucleotidase; 2: Gruppe von Ekto-Nucleotidasen, darunter auch die endotheliale Ekto-Nucleosid-Triphosphat-Diphosphorylase – CD39, Apyrase; 3: Ekto-5'-Nucleotidase – CD73; 4: Adenosin-Deaminase; 5: Purin-Nucleosid-Phosphorylase; 6: Xanthin-Oxidase; 7: Nucleosid-Transporter.

In den Extrazellulärraum freigesetztes Adenosin kann an spezifische Rezeptoren auf der Zelloberfläche binden. Die Aktivierung der Adenosinrezeptoren durch Bindung von extrazellulärem Adenosin führt über die Aktivierung receptorspezifischer G-Proteine zur Steigerung oder Hemmung der intrazellulären Konzentration an zyklischen Adenosinmonophosphat (cAMP). Aufgrund der Affinität für Adenosin und der Verknüpfung mit aktivierenden oder hemmenden G-Proteinen werden vier Rezeptorsubtypen unterschieden. Zur Gruppe der Rezeptoren, die die Adenylylzyklase durch G_i -Proteinen hemmen und so die Bildung von cAMP vermindern, gehören der hochaffine A_1 -Rezeptor und der niedrigaffine A_3 -Rezeptor. Davon lassen sich der hochaffine A_{2A} - und der niedrigaffine A_{2B} -Rezeptor unterscheiden, die ihre Wirkung durch stimulierende G_s -Proteine und konsekutive Zunahme von cAMP vermitteln (Übersicht zu den Adenosinrezeptoren unter Referenzen 36, 37).

In mehreren tierexperimentellen Studien konnte Ende der neunziger Jahre nachgewiesen werden, dass dem Nukleosid Adenosin eine zentrale Funktion als Mediator der ischämischen Präkonditionierung der Leber zukommt. Tabelle 4 gibt dazu einen exemplarischen Überblick.

Autor, Zeitschrift	Warme Kalte Ischämie	/ in vivo in vitro	Spezies	Experimentelle Vorgehensweise / Ergebnis
Peralta et al Hepatology 1999 ²⁵	warm	in vivo	Ratte	IR / IPC ± Blockade von A ₁ -, A ₂ -Rezeptoren <i>IPC wird durch die extrazelluläre Bindung von Adenosin an A₂-Rezeptoren vermittelt.</i>
Serracino-Inglott et al BMC Gastroent 2002 ³⁸	warm	in vivo	Ratte	IR ± Adenosin-Infusion <i>Die pharmakologische Präkonditionierung durch exogen zugeführtes Adenosin schützt vor hepatozellulären Ischämie-Reperfusionsschaden.</i>
Nilsson et al J Gastroint Surg 2000 ²⁶	warm	in vivo	Ratte	IPC / IR ± Dipyridamol <i>Die pharmakologische Präkonditionierung durch Erhöhung endogen vorhandenen Adenosins schützt vor dem Ischämie-Reperfusionsschaden.</i>
Arai et al Hepatology 2000 ³⁹	kalt	in vivo	Ratte	IR / IPC ± A ₁ -, A ₂ -R-Agonisten bzw. A ₁ -, A ₂ -R-Antagonisten <i>Der zellprotektive Effekt der IPC nach Ischämie und Reperfusion wird durch Blockade von A₂-R aufgehoben. Hingegen verhindert die Gabe von A₂-Rezeptoragonisten ebenso wie die IPC das Absterben von Endothelzellen.</i>
Carini et al Hepatology 2001 ²⁴	warm	in vitro	Ratte	Hypoxie ± A ₁ -, A ₂ -R-Agonisten bzw. A ₁ -, A ₂ -R-Antagonisten <i>Aktivierung von A_{2A}-Rezeptoren schützt Hepatozyten vor hypoxischen Zelltod vergleichbar der Protektion nach hypoxischer Präkonditionierung. Agonismus an A_{2A}-R führt ähnlich wie die hypoxische Präkonditionierung zur Aktivierung von G_i-Proteinen, der PKC und der p38-MAPK.</i>

Tabelle 4: Übersicht über die tierexperimentellen Studien zur Rolle von Adenosin bei der ischämischen Präkonditionierung der Leber. IR: Ischämie/Reperfusion. IPC: ischämische Präkonditionierung.

In einem Modell des warmen Ischämie-Reperfusionsschadens der Leber konnte Peralta et al den plasmatischen Anstieg der Leberenzyme durch eine ischämische Präkonditionierung signifikant reduzieren. Hierfür wurde die Leber durch eine 10 minütige Ischämie gefolgt von einer 10 minütigen Reperfusionphase präkonditioniert. Die Gabe eines A₁-Rezeptorantagonisten hatte keinen Einfluss auf die ischämische Präkonditionierung. Durch Verabreichung eines A₂-Rezeptorantagonist wurde der protektive Effekt aufgehoben.²⁵

Serracino-Inglott et al konnten die positiven Effekte der ischämischen Präkonditionierung durch die exogene Zufuhr von Adenosin zur pharmakologischen Präkonditionierung simulieren. Dabei kam es auch zu einer deutlich verringerten Rate an abgestorbenen sinusoidalen Endothelzellen in der Gruppe mit pharmakologischer Präkonditionierung.³⁸ Auch die Erhöhung endogen vorhandenen Adenosins durch Hemmung der Aufnahme in die Zellen durch Dipyridamol hatte einen verringerten Leberzellschaden und eine bessere Leberdurchblutung zur Folge.²⁶

Ein weiterer Hinweis für die Beteiligung der A₂-Rezeptoren an der ischämischen Präkonditionierung der Leber zeigte sich in einer Studie von Arai et al durch die Anwendung eines A₂-Rezeptoragonisten in einem Modell zum Ischämie-Reperfusionsschaden nach kalter Ischämie der Leber.³⁹ Diese Ergebnisse aus den tierexperimentellen Studien wurden von Carini et al aufgenommen und in einem in vitro-Modell an isolierten Hepatozyten fortgeführt. Um auch die intrazellulären Vorgänge der ischämischen Präkonditionierung untersuchen zu können, wurden die Hepatozyten unter kontrollierten Bedingungen norm-, oder hypoxisch inkubiert, bzw. hypoxisch präkonditioniert. Auch hier zeigte sich eine Protektion der Leberzellen vor hypoxisch bedingtem Zelltod durch die Präkonditionierung. Die Vermittlung der hypoxischen Präkonditionierung durch A_{2A}-Rezeptoren wurde in diesem Modell durch den Einsatz spezifischer Antagonisten bestätigt.

Aufgrund dieser Ergebnisse lassen sich möglicherweise zukünftige Therapien zur Vermeidung des Ischämie-Reperfusionsschaden der Leber entwickeln. Erste Studien zur klinischen Anwendung der ischämischen Präkonditionierung wurden am Herzen durchgeführt. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus den Tierexperimenten sprechen die Ergebnisse auch beim Menschen für eine zentrale Bedeutung des Adenosins (Tabelle 5).

Autor	Organ / Zellen	Methode	Experimentelle Vorgehensweise / Ergebnis
Schaefer et al Am Heart Journal 2001 ⁴⁰	Herz	Messung der ST- Strecken-Veränderung nach Ballondilatation der Koronararterien	Wiederholte Balondilatation ± Aminophyllin <i>Durch Blockade der Adenosinrezeptoren kommt es zu einer Zunahme der ST- Streckenveränderung nach der zweiten Balondilatation.</i>
Cohen et al Ann N Y Acad Sci 1999 ⁴¹	1. Herz 2. Ventrikel- myozyten	1. Messung von Stoffwechsel- produkten während Bypass-Operationen 2. Bestimmung abgestorbener Zellen	1. Bypass-Operation ± Infusion von Adenosin <i>Die pharmakologische Präkonditionierung mit exogenem Adenosin führt zu einem höheren Gehalt an energiereichen Phosphaten im Muskelgewebe</i> 2. IR ± IPC; IR ± Adenosin, AR-Blockade <i>Die ischämische Präkonditionierung führt zu erhöhten extrazellulären Adenosinkonzentrationen und verringert das Absterben von Zellen. Ein vergleichbarer Effekt wurde durch die exogene Zufuhr von Adenosin erzielt, der durch die Gabe eines Adenosinrezeptorblockers verhindert werden konnte.</i>
Carr et al, Cardiovasc Res 1997 ⁴²	atriale Trabekel- muskelzellen	Messung der Kontraktionskraft durch elektrische Stimulation nach Ischämie und Reperfusion im Vergleich zum Ausgangswert	Hypoxie ± A ₁ -, A ₃ -Rezeptoragonisten <i>Durch die IPC bleibt die Kontraktionskraft der Kardiomyozyten nach Ischämie deutlich besser erhalten. Pharmakologische Präkonditionierung durch A₁- und A₃- Rezeptoragonisten haben eine der IPC vergleichbare Wirkung.</i>

Tabelle 5: Übersicht über experimentelle und klinische Studien für die Wirkung von Adenosin bzw. Adenosinrezeptoren zur Präkonditionierung des Herzens beim Menschen.

Schaefer et al verwendeten dazu das Modell der ischämischen Präkonditionierung durch wiederholten Verschluss der Koronargefäße durch Ballondilatation während perkutaner Koronarangioplastie (PTCA).⁴⁰ Dabei führt die initiale Ischämie, ausgelöst durch eine Koronargefäßokklusion durch den aufgepumpten Ballon, zu einer geringeren Schmerzempfindung und ST-Streckenveränderung im gleichzeitig abgeleiteten Oberflächen-Elektrokardiogramm (EKG) in der darauf folgenden therapeutischen Ballondilatation. Patienten, bei denen die Adenosinrezeptoren durch Infusion von Aminophyllin blockiert wurden, hatten eine signifikante Zunahme der ST-Streckenveränderung im Vergleich zur ersten Ballondilatation und zur Kontrollgruppe. Die Autoren schlossen daraus, dass in Übereinstimmung mit vorhergehenden tierexperimentellen Studien auch beim Menschen Adenosin und Adenosinrezeptoren an der ischämischen Präkonditionierung des Herzens beteiligt sein müssen. Dies wurde auch in einer Studie zur pharmakologischen Präkonditionierung vor kardialen Bypassoperationen

untersucht. Patienten erhielten 10 Minuten vor Beginn des „cross-clamp“ eine Infusion mit Adenosin. Die Wirkung wurde anhand der Bestimmung energiereicher Phosphate und Stoffwechselprodukte im Gewebe untersucht. Durch die Ischämie nahm der ATP-Gehalt im Herzmuskelgewebe nach Reperfusion ab, während es nach der Zufuhr von Adenosin zur Präkonditionierung zu keinem Abfall der ATP-Konzentration kam.⁴¹ Zur Überprüfung dieser Ergebnisse wurden in einem zweiten Teil der Studie Herzmuskelzellen aus Ventrikelbiopsien von Patienten gewonnen und diese unter verschiedenen Bedingungen inkubiert. Die Bestimmung abgestorbener Zellen und Messung von Stoffwechselprodukten dienten dabei als Messparameter. Sowohl anoxische als auch hypoxische Inkubationsbedingungen zur Präkonditionierung führten zu einer geringeren Rate an Zelluntergang. Präkonditionierung durch exogenes Adenosin vor Ischämie führte zu weniger abgestorbenen Zellen, einen höheren ATP-Gehalt und einen niedrigeren Laktat-Gehalt am Ende der Reperfusion. Die gleichzeitige Zufuhr eines Adenosinrezeptorantagonisten hob den Schutz durch die Präkonditionierung auf.

Eine genauere Untersuchung der beteiligten Adenosinrezeptoren an der ischämischen Präkonditionierung wurde von Carr et al an isolierten menschlichen atrialen Trabekelmuskelzellen durchgeführt. Diese hatten sowohl nach ischämischer, als auch nach pharmakologischer Präkonditionierung mit A₁-, und A₃-Rezeptoragonisten eine deutlich bessere funktionale Kapazität nach Ischämie.⁴²

Die Übertragung dieser vielversprechenden Ergebnisse der klinischen Anwendung der ischämischen Präkonditionierung des Herzens auf Operationen an der Leber zur Vermeidung einer ischämie-reperfusion-bedingten Organschädigung wurde im Jahre 2000 durch Clavien et al beschrieben.²⁷ 24 Patienten, bei denen eine Leberteilektomie vorgesehen war, wurden in eine Kontroll- oder Studiengruppe randomisiert. Die Patienten, bei denen eine ischämische Präkonditionierung durch 10 Minuten Ischämie und 10 Minuten Reperfusion vor dem Abklemmen der zuführenden Gefäße durchgeführt wurde, hatten am ersten postoperativen Tag signifikant niedrigere AST- und ALT Werte im Serum. Darüber hinaus wurde in den entnommenen Lebergewebeproben eine deutlich geringere Anzahl an apoptotischer endothelialer Sinusoidalzellen gefunden. Die Auswertung der Daten zeigte, dass insbesondere Patienten mit Steatosis der Leber, also Patienten, deren Leber ischämische Episoden deutlich schlechter toleriert, von der ischämischen

Präkonditionierung profitierten.²⁷ In einer prospektiv randomisierten Folgestudie mit 100 Patienten, hatten Gewebeproben aus der Leber von Patienten, die eine IPC erhalten hatten, einen deutlich höheren Gehalt an ATP als Patienten ohne IPC.⁴³ Insbesondere Patienten, jünger als 60 Jahre, haben von der Anwendung der ischämischen Präkonditionierung profitiert.

In keiner diesen Studien konnte aber die direkte Bildung von Adenosin oder aber die Beteiligung von Adenosinrezeptoren an der ischämischen Präkonditionierung der Leber, analog den Untersuchungen am Herzen nachgewiesen werden.

Daher war es Ziel unserer Studie zu klären, ob die ischämische Präkonditionierung die Bildung und Freisetzung an Adenosin stimuliert und ob der Abbau von energiereichen Phosphaten während einer nachfolgenden hypoxisch-ischämischen Periode durch die ischämische Präkonditionierung vermindert werden kann.

Bei der Beantwortung unserer Fragestellung nimmt Adenosin eine doppelte Bedeutung ein. Bei der deskriptiven Klärung seiner Beteiligung am Phänomen der ischämischen Präkonditionierung erfüllt Adenosin die postulierte Rolle eines „Mediators“. Bei der Beurteilung der durch die IPC eventuell erzielten Protektion vor den Auswirkungen des nachfolgenden Pringle-Manövers ist Adenosin und seine Abbauprodukte Inosin, Hypoxanthin und Xanthin neben dem Laktat „Indikator“ der Schwere der Ischämie.

In der frühen Reperfusionphase nach ischämischer Präkonditionierung stieg die Adenosinkonzentration im Plasma des portalvenösen Blutes an. Diese Erhöhung der Adenosinplasmakonzentration war statistisch nicht signifikant, jedoch wurde sie von einer signifikanten Erhöhung seiner Abbauprodukte Inosin, Hypoxanthin und Xanthin begleitet. Diese Veränderungen deuten darauf hin, dass selbst während der kurzen Ischämie im Rahmen einer ischämischen Präkonditionierung größere Mengen an Adenosin gebildet worden sind. Diese konnten jedoch weder im portalvenösen noch im arteriellen Blut direkt bestimmt werden, da die Halbwertszeit von Adenosin im Plasma nur wenige Sekunden beträgt (Abbildung 2) und so schnell zu seinen Metaboliten abgebaut wurde.

Eine Alternative zur Bestimmung der Konzentrationen im Plasma stellt die direkte Messung der Konzentrationen im Lebergewebe dar. Aufgrund der Invasivität der dazu erforderlichen Gewebeentnahmen ist dies in tierexperimentellen Studien

viel leichter möglich. Tatsächlich konnte auf diese Weise nicht nur ein Abbau von ATP, ADP und AMP verbunden mit erhöhten Werten von Inosin, Hypoxanthin und Xanthin nachgewiesen werden, sondern es zeigten sich schon nach kurzzeitiger Ischämie auch gesteigerte Konzentrationen von Adenosin.^{22,44,45} Diese experimentellen Daten unterstützen unsere Ergebnisse und die daraus gezogene Schlussfolgerung, dass schon eine relativ kurze Ischämie während der Präkonditionierung ausreicht, die Bildung von Adenosin im Lebergewebe zu stimulieren. Allerdings kann dadurch nicht zwingend auf eine Mediatorrolle von Adenosin bei der ischämischen Präkonditionierung der Leber geschlossen werden. Um die aktuell viel diskutierte Rolle von Adenosin als Mediator bei der ischämischen Präkonditionierung der Leber beim Menschen nachweisen zu können, wäre die pharmakologische Präkonditionierung durch Perfusion der Leber mit exogen zu applizierendem Adenosin ein zu fordernder Versuchsansatz.

5.2. Effekte der ischämischen Präkonditionierung auf Parameter des Energiestoffwechsels und der Leberzellschädigung

In verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen konnten durch die ischämische Präkonditionierung auch solche Funktionen der Leber aufrechterhalten bzw. verbessert werden, die auf das Vorhandensein von ATP angewiesen sind. Darunter fällt insbesondere die Sekretion von Galle, die durch eine Präkonditionierung der Leber bei der Ratte⁴⁶ signifikant verbessert wurde. In weiteren Versuchen zeigten die ischämische und pharmakologische Präkonditionierung durch Anwendung von A_{2A}-Rezeptoragonisten ähnliche Ergebnisse in Bezug auf den Erhalt der energiereichen Phosphate ATP und ADP während einer nachfolgenden längeren ischämischen Episode.^{22,44} In diesen Versuchen war auch ein geringerer Anfall an Inosin, Hypoxanthin und Xanthin zu beobachten.²² Ebenso fiel der Anstieg an Laktat im Plasma geringer aus. Vergleichbare Ergebnisse wurden ebenfalls nach der ischämischen Präkonditionierung des Herzens beobachtet. Dies lässt den Schutz des Gewebes durch einen geringeren Abbau von ATP und eine verminderte Produktion an Laktat vermuten.⁴⁷

Auch in unserer Studie hatten Patienten nach ischämischer Präkonditionierung deutlich geringere Plasmakonzentrationen an Inosin, Hypoxanthin

und Xanthin nach Beendigung des Pringle-Manövers im Vergleich zu Patienten ohne Präkonditionierung. Ebenso kam es durch die Präkonditionierung zu einem geringeren Anstieg an Laktat im Plasma. Die in unserer Studie beobachteten niedrigeren Plasmapurin- und Laktatkonzentrationen können in Analogie zur Interpretation tierexperimenteller Ergebnisse als Ausdruck einer verbesserten Aufrechterhaltung des Energiehaushaltes in den Zellen während einer Ischämie verstanden werden.^{22,44,47} Hierfür wurde in der Fachliteratur der Begriff eines „metabolic arrest“ geprägt, der die ischämische Präkonditionierung in den Zusammenhang mit einem geringeren ATP-Verbrauch sowie einer verminderten Laktatansammlung im Gewebe stellt. Diese Hypothese wird auch durch die Ergebnisse unserer klinischen Studie für die Leber des Menschen unterstützt.²² Erwähnenswert ist ferner eine ebenfalls von Clavien et al kürzlich veröffentlichte weitere prospektiv randomisierte klinische Studie, in der von einer statistisch signifikant höheren postischämischen ATP-Konzentration in der Leber nach ischämischer Präkonditionierung im Vergleich ohne Präkonditionierung berichtet wird.⁴³ Einschränkend ist jedoch anzumerken, dass pro Gruppe nur von jeweils 5 Patienten Lebergewebeproben entnommen wurden, wobei die Entnahme der Gewebeproben ohne Anwendung der „freeze-clamp“-Technik erfolgte.

5.3. Methodenkritik

Es wäre deshalb wünschenswert gewesen auch in unserer Studie Lebergewebe zu entnehmen und den Gehalt an energiereichen Adeninnukleotiden und von Laktat direkt zu bestimmen. Idealerweise müssen - und abweichend von der von Clavien et al angewandten Entnahmetechnik - die Lebergewebeproben direkt mit flüssigem Stickstoff in situ gefroren und entnommen werden, da andernfalls innerhalb weniger Sekunden ein nicht vorhersehbarer schneller Verlust an ATP eintritt. Aufgrund der dafür erforderlichen Anwendung einer so genannten „freeze-clamp“-Technik, welche aus Sicht der chirurgischen Kollegen eine zu große Nachblutungsgefahr mit sich gebracht hätte, haben wir einen indirekten Ansatz zur Erfassung von Veränderungen bzw. Störungen des hepatischen Energiehaushaltes gewählt. Hierzu wurden die Konzentrationen der ATP bzw. Adenosin-Abbauprodukte Inosin, Hypoxanthin und Xanthin und des Laktats im arteriellen Blut und im Blut der

Pfortader als Indikatoren der Schwere der Ischämie bestimmt. Da lebervenöses Blut nicht gewonnen werden konnte, wurde als grobes Maß die Konzentrationen der die Leber verlassenden Metabolite im zentralvenösen Blut gemessen. Setzt man in Rechnung, dass das lebervenöse Blut mit dem Blut aus der unteren und der oberen Körperhälfte stark verdünnt wird, bevor es über den zentralvenös Katheter aspiriert wird, so darf man aus der nur geringen Abnahme der im zentralvenösen Blut gemessenen Purin- und Laktatkonzentrationen gegenüber den im portalvenösen Blut gemessenen Werten darauf schließen, dass nach Abklemmen die Leber in der frühen Phase ihrer Reperfusion in einem erheblichen Umfang Abbauprodukte aus dem Energiestoffwechsel freisetzt (siehe Abbildung 3, 3' nach Reperfusion). Für eine quantitative Berechnung der hepatischen Purinproduktion wäre neben den zusätzlichen Messungen der Metabolite im lebervenösen Blut schließlich auch die Bestimmung der Blutflüsse in der Pfortader und der A. hepatica notwendig gewesen, um die hepatische Nettoproduktion an Purinen als Differenz zwischen der die Leber venös verlassenden Mengen und der in die Leber über die A. hepatica und die Pfortader einströmenden Mengen zu bestimmen. Aufgrund des hohen Aufwandes intraoperativer dopplersonographischer Untersuchungen bei einer oftmals chirurgisch anspruchsvollen Operation konnten solche Blutflussmessungen leider nicht durchgeführt werden.

5.4. Auswirkungen der ischämischen Präkonditionierung der Leber auf den Darm

Obwohl Flussmessungen intraoperativ nicht möglich waren, konnte eine Freisetzung von Metaboliten aus dem intestinalen Energiestoffwechsel aufgrund der einfacheren Gefäßversorgung des Darmes als Konzentrationsdifferenz zwischen dem portalvenösem und dem arteriellen Blut abgeschätzt werden. Nach Beendigung des Pringle-Manövers stiegen die Konzentrationen der Purine erstaunlicherweise auch im portalvenösen Blut an. Offensichtlich hatte das Abklemmen der Pfortader über die venöse Stase wohl auch zu einer rückwärts wirkenden Behinderung des arteriellen Einstromes und damit zu einer Ischämie des Darmes geführt. Subtrahiert man nun von den im portalvenösen Blut gemessenen Purinkonzentrationen die arteriellen Werte, so zeigten nur die Patienten in der Pringle-Gruppe eine positive

Differenz im Sinne einer gesteigerten intestinalen Nettoproduktion. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass das Pringle-Manöver nicht nur zu einer Störung im Energiehaushalt der Leber, sondern auch des Darmes geführt hat. In Übereinstimmung damit stehen die Ergebnisse tierexperimenteller Studien. In einer Untersuchung an Ratten stiegen die Serumkonzentrationen an Harnsäure, einem Abbauprodukt von Xanthin, proportional zur Dauer des Pringle-Manövers an. Es konnte in dieser Untersuchung gezeigt werden, dass dies hauptsächlich dem Abbau von ATP im Darmgewebe zuzuschreiben war.⁴⁸ Eine ähnliche Studie an Patienten führte zu der gleichen Schlussfolgerung.⁴⁹ Dabei wurden die Harnsäurewerte im Serum während und nach Eingriffen an der Leber gemessen, bei denen zur Leber führende Gefäße abgeklemmt wurden. Darüber hinaus wurde der Grad der Stauung des Darmes optisch bewertet. Zur Anwendung kamen das Pringle-Manöver, die vaskuläre Ausklemmung eines Leberlappens und die segmentale Unterbrechung der Portalvenen- und Leberarterienäste. Dabei führte nur das Pringle-Manöver zu einem Rückstau des portalvenösen Blutes in den Darm durch Abklemmen des gesamten portalvenösen Abflusses. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass nur im Falle eines Blutstaus im Darm, ausgelöst durch das Pringle-Manöver, die Harnsäurewerte im Serum ansteigen. Die Autoren schließen aus diesen Ergebnissen, dass der Grossteil der gebildeten Harnsäure nicht aus der ischämischen Leber, sondern aus dem Darm freigesetzt wird. Die aus dem Darm stammende Harnsäure kann auch als indirekter Nachweis einer Freisetzung von Adenosin herangezogen werden, da Adenosin über Hypoxanthin und Xanthin zu Harnsäure abgebaut wird.⁴⁹

In unserer Studie konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass der damit verbundene Anstieg der Purinmetabolite im Plasma durch die ischämische Präkonditionierung zu vermeiden war, denn im Gegensatz zu Patienten mit Pringle-Manöver alleine waren die berechneten Differenzen der Patienten mit Präkonditionierung annähernd null (Abbildung 4). Daher kann die ischämische Präkonditionierung möglicherweise nicht nur die Leber, sondern auch das Darmgewebe vor einer ischämischen Schädigung schützen. Um diesen Effekt genauer untersuchen zu können, wäre es von Vorteil gewesen, wieder Gewebe für die Bestimmung von Purinen oder für die Durchführung histologischer Untersuchungen des Darmes zu gewinnen. Dies hätte allerdings für den Patienten ein nicht vertretbares Risiko an intraabdominalen Infektionen durch mögliche

Leckagen an den Entnahmestellen bedeutet.

5.5. Klinisches Modell und Effektivität der ischämischen Präkonditionierung

Die vorliegende Studie wurde nicht unter standardisierten Bedingungen durchgeführt, sondern reflektiert die Ergebnisse aus einem prospektiv randomisierten Patientenkollektiv, so wie es sich während Routineeingriffen in unserer Klinik ergab. Die Dauer des Pringle-Manöver war deshalb vorher nicht exakt festgelegt worden, sondern resultierte als Größe in Abhängigkeit vom chirurgischen Vorgehen. Trotz der damit verbundenen Variationen bezüglich der Ischämiedauer, war der protektive Effekt der ischämischen Präkonditionierung stark genug, um die hepatozelluläre Schädigung - gemessen an den postoperativen Leberenzymwerten - signifikant zu reduzieren.

5.6. Therapeutischer Ausblick

Die ischämische Präkonditionierung ist Gegenstand aktueller intensiver Forschungsarbeit, da auf der Grundlage einer besseren Kenntnis der molekularen Vorgänge neue und vielversprechende pharmakologische präventive und therapeutische Interventionen entwickelt werden können. Insbesondere Risikogruppen wie ältere Patienten oder Patienten mit einer Leberzirrhose würden von organprotektiven Maßnahmen profitieren.

In den letzten Jahren hat das Verständnis der durch die ischämische Präkonditionierung ausgelösten Vorgänge erheblich zugenommen. Die Forschungsarbeiten zur Präkonditionierung des Myocards haben dabei viel zur Aufklärung der hepatischen Präkonditionierung beigetragen. Dabei hat sich eine wesentliche Beteiligung von Adenosin^{50,51} und NO⁵² in der Initialphase sowohl am Herzen als auch bei der Leber herausgestellt. Im Gegensatz zur Rolle der A₁- oder A₃-Rezeptoren am Herzen scheinen auf den Hepatozyten A_{2A}-Rezeptoren die protektiven Effekte der Präkonditionierung zu vermitteln.³¹ Die Gabe des spezifischen-A_{2A}-Rezeptor-Antagonisten 3,7-Dimethyl-1-Propargylxanthin vor der ischämischen Präkonditionierung hob den protektiven Effekt nach 90-minütiger Ischämie in Rattenlebern auf. Darüber hinaus kam es nach Zufuhr des A_{2A}-Rezeptor-

Antagonisten nicht zu einem Anstieg der NO-Freisetzung, wie es sonst nach ischämischer Präkonditionierung auftritt²². Hingegen konnte durch die Infusion von CGS21680, einem spezifischen A_{2A}-Rezeptor-Agonisten, nicht jedoch durch den A₁-Rezeptor-Antagonisten N-Phenyl-Isopropyladenosin, die Toleranz der Leber vor Ischämie erhöht werden.⁴⁴

Diese vorliegende Studie unterstützt die aus Tierexperimenten gewonnene Theorie, dass Adenosin - insbesondere über die Bindung an A_{2A}-Rezeptoren - als einer der Hauptmediatoren den Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Leber vermittelt. Die dafür notwendige Unterbrechung der Operation für den Zeitraum der ischämischen Präkonditionierung, in unserer Studie 20 Minuten, stellt allerdings eine Beeinträchtigung des Operationsablaufes dar. Aus den hier vorgestellten Ergebnissen würde sich daher anbieten, die ischämische Präkonditionierung durch eine agonistische Wirkung an Adenosin-A_{2A}-Rezeptoren zu ersetzen. Dies könnte bereits in der Phase der Präparation der Leber zur Resektion erfolgen und damit Operationszeit einsparen, gleichzeitig aber die Leber vor reperusionsbedingten Schäden schützen. Da die in unserer Studie durchgeführte ischämische Präkonditionierung nur einen geringen und transienten Anstieg von Adenosin und dessen Abbauprodukte im Plasma (Abbildung 2 und 3) bewirkte, müsste eine pharmakologische Präkonditionierung auch nur über einen begrenzten Zeitraum erfolgen. Die direkte kontinuierliche Applikation von Adenosin als Dauerinfusion garantiert eine transiente Wirkung, da es aufgrund der kurzen Halbwertszeit mit Beendigung der Infusion rasch zu einem Abfall wirksamer Plasmaspiegel kommt. Allerdings hat Adenosin neben den direkt kardialen Nebenwirkungen auch negative Auswirkungen auf die Hämodynamik, die gerade bei Operationen mit großen Volumenverschiebungen und Flüssigkeitsbedarf unerwünscht sind. Eine optimale Substanz zur pharmakologischen Präkonditionierung sollte damit neben der Möglichkeit zur Verabreichung als Infusion eine mit dem Adenosin vergleichbare kurze Halbwertszeit besitzen und die unerwünschten Auswirkungen auf den Kreislauf vermeiden. Dies könnte durch eine hydrolysierbare Form eines solchen Medikaments erreicht werden, das gemäß dem gegenwärtigen Kenntnisstand idealerweise eine hohe Selektivität für A_{2A} Rezeptoren aufweist, da dieser Adenosinrezeptorsubtyp das Phänomen der Präkonditionierung an der Leber zumindest im Tierexperiment vermittelt. Zudem bewirkt die Stimulation von A_{2B}-Rezeptoren⁵³ im Kreislauf eine ausgeprägte Vasodilatation und verursacht

womöglich damit unerwünschte hämodynamischen Nebenwirkungen. Darüberhinaus besitzt Adenosin auch ausgeprägte antiinflammatorische Wirkungen, die durch die Bindung von Adenosin ebenfalls an A_{2A} -Rezeptoren auf der Zelloberfläche von Leukozyten vermittelt werden.^{36,54} Eine therapeutische Infusion von Adenosin oder von hydrolysierbaren A_{2A} -Rezeptoragonisten nach Reperfusion erscheint so in Ergänzung zu einer vorhergehenden präventiven Applikation zur Begrenzung des Ischämie/Reperfusionsschadens sinnvoll.

6. Zusammenfassung

Nach Gehirn und Herz ist die Leber eines der am besten durchbluteten und stoffwechselaktivsten Organe. Daher kann die Leber längerfristige Unterbrechung der Blutversorgung nur eingeschränkt kompensieren. Die damit verbundene Störung der Sauerstoffzufuhr, oder Ischämie führt zur Beeinträchtigung der Homöostase der Zellen und zu einer Organschädigung durch Zelltod. Wird die Sauerstoffversorgung wieder hergestellt, kommt es zu einer weiteren Verstärkung des Zellschadens. Dies wird auch als Ischämie/Reperfusionsschaden bezeichnet. Ein solcher Ischämie/Reperfusionsschaden kann nach einer Anwendung des Pringle-Manövers zur blutarmen Resektion von Metastasen und Tumoren der Leber auftreten. Die dadurch ausgelösten Prozesse können zur Schädigung der Lunge oder sogar zum Multiorganversagen führen und erhöhen damit die Morbidität und Mortalität. Eine Option zum Schutz der Leber besteht in der Anwendung der so genannten ischämischen Präkonditionierung (IPC). Dabei hat eine kurzfristige Ischämie, gefolgt von einer kurzen Reperusionsphase, einen protektiven Effekt vor einer Organschädigung, die durch eine nachfolgende längerfristige Ischämie ausgelöst wird. Dies wurde in mehreren Tiermodellen bestätigt. Übereinstimmend scheint dabei Adenosin einer der zentralen Mediatoren zu sein. Dies steht in Einklang damit, dass während einer ischämischen Periode ATP schnell zu Adenosin und weiter zu Inosin, Hypoxanthin und Xanthin abgebaut wird. Die exogene Zufuhr, aber auch die Erhöhung der endogenen Adenosinkonzentration haben darüber hinaus einen der ischämischen Präkonditionierung vergleichbaren Effekt. Ebenso erzielte die Aktivierung oder die Blockade von Adenosinrezeptoren durch die Anwendung von Agonisten und Antagonisten einen der ischämischen Präkonditionierung vergleichbaren Schutz oder führte zu einer Aufhebung der Protektion. Darüber hinaus scheint die ischämische Präkonditionierung nicht nur in Tiermodellen wirksam zu sein. So konnten bereits mehrere klinische Studien nachweisen, dass die ischämische Präkonditionierung auch beim Menschen eine Protektion vor ischämischen Schäden des Myokards oder nach Leberteilresektion bewirkt.

Die Rolle von Adenosin bei der hepatischen Präkonditionierung beim Menschen wurde bisher jedoch nicht analysiert.

In der vorliegenden Studie wurden daher folgende Fragestellungen untersucht:

- Kommt es durch die ischämische Präkonditionierung zu einem passageren Anstieg der Plasmakonzentrationen von Adenosin und seiner Abbauprodukte?
- Wird der durch das Pringle-Manöver bedingte Anstieg der Plasmapurinkonzentrationen durch die ischämische Präkonditionierung verringert?
- Verbessert die ischämische Präkonditionierung die postoperative Leberintegrität und Leberfunktion, gemessen an den Serumenzymwerten?

Die Beantwortung dieser Fragen erfolgte anhand einer prospektiv randomisierten Studie zur klinischen Effektivität der ischämischen Präkonditionierung bei Leberteilresektion mit Anwendung des Pringle-Manövers.

Insgesamt wurden 100 Patienten für die Aufnahme in das Studienprotokoll untersucht und per Los zu einer von drei Studiengruppen zugeteilt. In der Kontrollgruppe wurde die Leberteilresektion ohne Abklemmung der Blutversorgung der Leber vorgenommen (Non-Pringle, NPR). Bei Patienten der Pringle-Gruppe wurde während der gesamten Resektion die Blutzufuhr zur Leber durch Anwendung des Pringle-Manöver unterbrochen (Pringle, PR). Bei Patienten mit ischämischer Präkonditionierung wurde die Blutzufuhr für 10 Minuten nur kurz unterbrochen und nach weiteren 10 Minuten Reperfusion das Pringle-Manövers für die dann erfolgende Resektion angewendet (ischämische Präkonditionierung, IPC).

Die Plasmakonzentrationen von Adenosin und seiner Abbauprodukte wurden vor Beginn der Resektion (NPR) oder kurz vor dem Abklemmen der Portalgefäße (PR) bestimmt. Bei Patienten mit ischämischer Präkonditionierung (IPC) erfolgte jeweils vor und nach der kurzen Ischämie zur Präkonditionierung eine Blutabnahme, sowie kurz vor Beginn des Pringle-Manövers. Darüber hinaus wurden in allen drei Patientengruppen Blutproben 3, 15 und 30 Minuten nach Ende der Resektion bzw. des Pringle-Manövers entnommen. Um die Bildung von Laktat und Adenosinabbauprodukten in der Leber oder im Darm bestimmen zu können, wurden die Blutproben jeweils arteriell, portalvenös und zentralvenös gewonnen. Eine mögliche hepatische bzw. intestinale Freisetzung von Laktat, Adenosin und seiner Abbauprodukten konnte anhand der gemessenen Differenzen entlang der verschiedenen Gefäßstromgebiete abgeschätzt werden. Für die Beurteilung der

Wirksamkeit der ischämischen Präkonditionierung wurden Leberenzyme und Leberfunktionsparameter im Serum bestimmt.

Alle drei Patientengruppen waren in ihren demographischen Charakteristika vergleichbar. Auch die Chirurgie bezogenen Parameter zeigten keinen Unterschied, insbesondere waren die Resektionsdauer und die Länge des Pringle-Manövers in der PR - und IPC - Gruppe gleich.

Durch eine ischämische Präkonditionierung von 10 Minuten kam es zu einem temporären aber statistisch nicht signifikanten und somit nur tendenziellen Anstieg der Adenosinkonzentration im portalvenösen Blut. Die Abbauprodukte des Adenosins Inosin, Hypoxanthin und Xanthin konnten dagegen in signifikant erhöhten Konzentrationen an allen Abnahmeorten nachgewiesen werden. Das Laktat stieg signifikant im portal- und zentralvenösen Blut an. Nach der 10 minütigen Reperfusionphase und kurz vor dem Beginn des Pringle-Manövers normalisierten sich die Purinkonzentrationen auf vergleichbare Werte der anderen beiden Gruppen ohne ischämische Präkonditionierung.

Durch das Pringle-Manöver kam es als Ausdruck der Ischämie bedingten Störungen im Energiestoffwechsel zu einem ausgeprägten Anstieg aller Purine in der Reperfusionphase, der in der NPR-Gruppe so nicht beobachtet werden konnte. In der ischämisch präkonditionierten Gruppe wurde der Ischämie bedingte Anstieg von Hypoxanthin in der frühen Phase der Reperfusion signifikant abgeschwächt. Die Zunahme an Laktat im Plasma nach Ischämie und Resektion verringerte sich ebenfalls durch die ischämische Präkonditionierung signifikant.

Betrachtet man die berechneten portalvenösen-arteriellen Konzentrationsdifferenzen für die Purine, so zeigte sich in der PR-Gruppe, dass bedeutende Mengen an Purinen aus dem intestinalen Abflussgebiet in die Leber einströmen. Die ischämische Präkonditionierung konnte auch die Ischämie bedingte Bildung von Hypoxanthin im Darm signifikant reduzieren.

In der NPR-Gruppe bewirkte das Operationstrauma bereits alleine einen Anstieg der Serumaktivitäten für ALT und AST. In der PR-Gruppe stiegen diese Werte am ersten und zweiten postoperativen Tag noch stärker an. Die ischämische Präkonditionierung konnte diesen Anstieg signifikant reduzieren, dagegen konnte die Beeinträchtigung der Lebersyntheseparameter durch die Präkonditionierung nicht verbessert werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen damit, dass die ischämische Präkonditionierung i) die Bildung von Adenosin tendenziell und die seiner Abbauprodukte signifikant erhöht und ii) die durch das Pringle-Manöver hervorgerufenen Störungen im Energiehaushalt der Leber signifikant vermindert werden. Da die ischämische Präkonditionierung auch die gemessene portalvenöse-arterielle Purinkonzentrationsdifferenz reduzierte, kann ferner die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die ischämische Präkonditionierung auch Störungen in der Energiebilanz des Darmes reduziert.

Es ist anzunehmen, dass der günstige Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf den Energiehaushalt der Leber als auch des Darmes zur Protektion der Leber – gemessen an der Verminderung der postoperativen Leberenzymaktivitäten im Serum – beitragen.

Da für die Leber in zahlreichen tierexperimentellen Studien und für das Herz bereits auch klinische Untersuchungen eine signifikante Rolle von Adenosin als Mediator für die ischämische Präkonditionierung belegen, scheint der Einsatz von exogenem Adenosin für eine pharmakologische Präkonditionierung von Organen zum Schutz vor Ischämie-Reperfusionsschäden eine vielversprechende Perspektive zu sein.

7. Abkürzungen

A.	Arterie
ADP	Adenosindiphosphat
ALT	Alaninaminotransferase
AMP	Adenosinmonophosphat
Art	arteriell
AST	Aspartataminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
Ca ²⁺	Calcium-Ion
cAMP	engl.: cyclic Adenosine Monosphosphate
Da	Dalton
EGTA	ethylene-glycol-bis(2-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid
EHNA	erythro-9-(2-Hydroxy-3-nonyl)adenine
H ⁺	Wasstoff-Ion
HX	Hypoxanthin
I	Ischämie
ICAM-1	engl.: intercellular adhesion molecule 1
IL	Interleukin
IPC	ischämische Präkonditionierung
KG	Körpergewicht
Lig.	Ligamentum
MAPK	engl.: Mitogen activated Proteinkinase
MCP-1	engl.: monocyte chemoattractant protein-1
n	engl.: number (Anzahl)
Na ⁺	Natrium-Ion
NO	Stickstoffmonoxid
NPR	Non-Pringle
P _i	freie Phosphatgruppe
PMN	engl.: polymorphonuclear neutrophil
PR	Pringle
PT	engl.: permeability transition
pTT	partielle Thromboplastinzeit
Pv	portalvenös

Quick	Thromboplastinzeit nach Quick
R	Reperfusion
SEM	engl.: Standarderror of the Mean
TNF- α	Tumornekrosefaktor-alpha
VCAM-1	engl.: vascular adhesion molecule 1
X	Xanthin
Zv	zentralvenös

8. Zeitschriftenverzeichnis

Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol	American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology
Am J Physiol Heart Circ Physiol	American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology
Am J Surg	The American Journal of Surgery
Ann Surg	Annals of Surgery
Annu Rev Immunol	Annual Review of Immunology
Annu Rev Pharmacol Toxicol	Annual Review of Pharmacology and Toxicology
Annu Rev Physiol	Annual Review of Physiology
Arch Surg	Archives of Surgery
Biochem J	Biochemical Journal
BMC Gastroenterol	BioMed Central: Gastroenterology
Br J Surg	British Journal of Surgery
Can J Anesth	Canadian Journal of Anesthesia
Cardiovasc Res	Cardiovascular Research
Cell Signal	Cellular Signalling
Circ Res	Circulation Research
FEBS Letters	Federation of European biochemical Societies Letters
Free Radic Biol Med	Free Radical Biology and Medicine
Eur Surg Res	European Surgical Research
J Chromatogr	Journal of Chromatography
J Gastrointest Surg	Journal of Gastrointestinal Surgery
J Hepatol	Journal of Hepatology
J Mol Med	Journal of Molecular Medicine
J Pharmacol Exp Ther	Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics
J Surg Res	Journal of Surgical Research
Life Sci	Life Sciences
Pharmacol Rev	Pharmacological Reviews
Pharmacol Ther	Pharmacology & Therapeutics

Physiol Rev

Transplant Proc

World J Gastroenterol

Physiological Reviews

Transplantation Proceedings

World Journal of Gastroenterology

9. Literaturverzeichnis

1. Parks RW, Garden OJ. Liver resection for cancer. *World J Gastroenterol.* 2001;7(6):766-71.
2. Terkivatan T, de Wilt JH, de Man RA, van Rijn RR, Zondervan PE, Tilanus HW, IJzermans JN. Indications and long-term outcome of treatment for benign hepatic tumors: a critical appraisal. *Arch Surg.* 2001;136(9):1033-8.
3. Alonso Casado O, Moreno Gonzalez E, Loinaz Seguro C, Gimeno Calvo A, Gonzalez Pinto I, Perez Saborido B, Paseiro Crespo G, Ortiz Johansson C. Results of 22 years of experience in radical surgical treatment of hepatic hydatid cysts. *Hepatogastroenterology.* 2001;48(37):235-43.
4. Pringle JH. Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. *Ann Surg.* 1908;48:541-549.
5. Bismuth H, Majno PE. Hepatobiliary surgery. *J Hepatol.* 2000;32(Suppl 1):208-24.
6. Arnoletti JP, Brodsky J. Reduction of transfusion requirements during major hepatic resection for metastatic disease. *Surgery.* 1999;125:166-71.
7. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2001;181:160-6.
8. Jaeschke H. Preservation injury: mechanisms, prevention and consequences. *J Hepatol* 1996;25(5):774-80.
9. Bardenheuer HJ, Fabry A, Hofling B, Peter K. Adenosine: a sensitive marker of myocardial ischemia in man. *Cardiovasc Res* 1994;28(5):656-62.
10. Nagayama M, Katsuramaki T, Kimura H, Isobe M, Meguro M, Matsuno T, Nui A, Hirata K. Prediction of graft viability from non-heart-beating donor pigs using

hepatic microdialysate hypoxanthine levels. *J Surg Res* 2002;107(2):210-8.

11. Nishiyama A, Kimura S, He H, Miura K, Rahman M, Fujisawa Y, Fukui T, Abe Y. Renal interstitial adenosine metabolism during ischemia in dogs. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;280(2):F231-8.
12. Weigand MA, Michel A, Eckstein HH, Martin E, Bardenheuer HJ. Adenosine: a sensitive indicator of cerebral ischemia during carotid endarterectomy. *Anesthesiology* 1999;91(2):414-21.
13. Lasley RD, Hegge JO, Noble MA, Menter RM Jr. Comparison of interstitial fluid and coronary venous adenosine levels in in vivo porcine myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30(6):1137-47.
14. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem. J.* 1999;341(Pt. 2):233-49
15. Bernardi P. Mitochondrial Transport of Cations: Channels, Exchangers, and Permeability Transition. *Physiol Rev* 1999;79(4):1127-55.
16. Jaeschke H, Lemasters JJ. Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Gastroenterology* 2003;125(4):1246–57.
17. Carini R, Albano E. Recent insights on the mechanisms of liver preconditioning. *Gastroenterology* 2003;125(5):1480-91.
18. Fan C, Zwacka RM, Engelhardt JF. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. *J Mol Med.* 1999;77(8):577-92.
19. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74(5):1124-36.
20. Nandagopal K, Dawson TM, Dawson VL. Critical role for nitric oxide signaling in cardiac and neuronal ischemic preconditioning and tolerance. *J Pharmacol Exp*

Ther. 2001;297(2):474-8.

21. Gurke L, Marx A, Sutter PM, Frentzel A, Harder F, Seelig J, Heberer M. Ischemic preconditioning--a new concept in orthopedic and reconstructive surgery. *J Surg Res.* 1996;61(1):1-3.
22. Peralta C, Bartrons R, Riera L, Manzano A, Xaus C, Gelpi E, Rosello-Catafau J. Hepatic preconditioning preserves energy metabolism during sustained ischemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;279(1):G163-71.
23. Yadav SS, Sindram D, Perry DK, Clavien PA. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology.* 1999;30(5):1223-31.
24. Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, Vay D, Domenicotti C, Nitti MP, Paola D, Pronzato MA, Albano E. Signal pathway involved in the development of hypoxic preconditioning in rat hepatocytes. *Hepatology.* 2001;33(1):131-9.
25. Peralta C, Prats N, Xaus C, Gelpi E, Rosello-Catafau J. Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology.* 1999;30(6):1481-9.
26. Nilsson B, Friman S, Gustafsson BI, Delbro DS. Preconditioning protects against ischemia/reperfusion injury of the liver. *J Gastrointest Surg.* 2000;4(1):44-9.
27. Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg.* 2000;232(2):155-62.
28. Pagliaro P, Gattullo D, Rastaldo R, Losano G. Ischemic preconditioning: from the first to the second window of protection. *Life Sci.* 2001;69(1):1-15.
29. Schulz R, Cohen MV. Signal transduction of ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2001;52(2):181-98.

30. Hawaleshka A, Jacobsohn E. Ischaemic preconditioning: mechanisms and potential clinical applications. *Can J Anaesth* 1998;45(7):670-82.
31. Peralta C, Hotter G, Closa D, Prats N, Xaus C, Gelpi E and Rosello Catafau J. The protective role of adenosine in inducing nitric oxide synthesis in rat liver ischemia preconditioning is mediated by activation of adenosine A2 receptors. *Hepatology* 1999;29(1):126-32.
32. Peralta C, Hotter G, Closa D. Protective effect of preconditioning on the Injury associated to hepatic ischemia-reperfusion in the rat: role of nitric oxide and adenosine. *Hepatology* 1997;25(4):934-7.
33. Hagemeyer E, Kemper K, Boos KS. On-line high-performance liquid affinity chromatography-high-performance liquid chromatography analysis of monomeric ribonucleoside compounds in biological fluids. *J Chromatogr* 1983;282:663-9.
34. Ontyd J, Schrader J. Measurement of adenosine, inosine and hypoxanthine in human plasma. *J Chromatogr* 1984;307(2):404-9.
35. Decking U, Schlieper G, Kroll K. Hypoxia-induced inhibition of adenosine kinase potentiates cardiac adenosine release. *Circ Res* 1997;81(2):154-64.
36. Linden J. Molecular approach to adenosine-receptors: receptor-mediated mechanisms of tissue protection. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:775-87.
37. Olah ME, Stiles GL. Adenosine receptor subtypes: characterization and therapeutic regulation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995;35:581-606.
38. Serracino-Inglott F, Virlos IT, Habib NA, Williamson RCN, Mathie RT. Adenosine preconditioning attenuates hepatic reperfusion injury in the rat by preventing the down-regulation of endothelial nitric oxide synthase. *BMC Gastroenterol* 2002;2:22
39. Arai M, Thurman RG, Lemasters JJ. Contribution of adenosine A(2) receptors

and cyclic adenosine monophosphate to protective ischemic preconditioning of sinusoidal endothelial cells against Storage/Reperfusion injury in rat livers. *Hepatology* 2000;32(2):297-302.

40. Schaefer S, Correa SD, Valente RJ, Laslett LJ. Blockade of adenosine receptors with aminophylline limits ischemic preconditioning in human beings. *Am Heart J* 2001;142(3):E4.

41. Cohen G, Shirai T, Weisel RD, Rao V, Merante F, Tumiati LC, Mohabeer MK, Borger MA, Li RK, Mickle DA. Optimal myocardial preconditioning in humans. *Ann N Y Acad Sci* 1999;874:306-19.

42. Carr CS, Hill RJ, Masamune H, Kennedy SP, Knight DR, Tracey WR, Yellon DM. Evidence for a role for both the adenosine A1 and A3 receptors in protection of isolated human atrial muscle against simulated ischaemia. *Cardiovasc Res.* 1997;36(1):52-9.

43. Clavien PA, Selzner M, Rudiger HA, Graf R, Kadry Z, Rousson V, Jochum W. A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resection with versus without ischemic preconditioning. *Ann Surg* 2003;238(6):843-50.

44. Nakayama H, Yamamoto Y, Kume M, Yamagami K, Yamamoto H, Kimoto S, Ishikawa Y, Ozaki N, Shimahara Y, Yamaoka Y. Pharmacologic stimulation of adenosine A2 receptors supplants ischemic preconditioning in providing ischemic tolerance in rat livers. *Surgery* 1999;126(5):945-54.

45. Peralta C, Closa D, Xaus C, Gelpi E, Rosello Catafau J, Hotter G. Hepatic preconditioning in rats is defined by a balance of adenosine and xanthine. *Hepatology* 1998;28(3):768-73.

46. Yoshizumi T, Yanaga K, Soejima Y, Maeda T, Uchiyama H, Sugimachi K. Amelioration of liver injury by ischaemic preconditioning. *Br J Surg* 1998;85(12):1636-40.

47. Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res* 1990;66(4):913-31.
48. Kogure K, Tatemoto K, Maruyama Y, Ikarashi Y, Makuuchi M, Jamieson N. Uric acid changes in serum during different forms of hepatic vascular inflow occlusion. *Life Sci* 1997;60(20):1781-91.
49. Kogure K, Ishizaki M, Nemoto M, Kuwano H, Tatemoto K, Maruyama Y, Ikarashi Y, Makuuchi M. Evaluation of serum uric acid changes in different forms of hepatic vascular inflow occlusion in human liver surgeries. *Life Sci* 1999;64(5):305-13.
50. Cohen MV, Baines CP, Downey JM. Ischemic preconditioning: from adenosine to K_{ATP} channel. *Annu Rev Physiol* 2000;62:79-109.
51. de Jong JW, de Jonge R, Keijzer E, Bradamante S. The role of adenosine in preconditioning. *Pharmacol Ther* 2000;87(2-3):141-9.
52. Carini R, Grazia de Casaris M, Splendore R, Domenicotti C, Nitti M, Pronzato M, Albano E. Signal pathway responsible for hepatopreconditioning by nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 2003;34(8):1047-55.
53. Morrison RR, Talukder MA, Ledent Mustafa SJ. Cardiac effects of adenosine in A(2A) receptor knockout hearts: uncovering A(2B) receptors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282(2):H437-44.
- Morrison
54. Sitkovsky MV, Lukashev D, Apasov S, Kojima H, Koshiba M, Caldwell C, Ohta A, Thiel M. Physiological control of immune response and inflammatory tissue damage by hypoxia-inducible factors and adenosine A2A receptors. *Annu Rev Immunol* 2004;22:657-82.
55. Carini R, Grazia de Casaris M, Splendore R, Baldanzi G, Nitti M, Alchera E,

- Filigheddu N, Domenicotti C, Pronzato MA, Graziani A, Albano E. Role of phosphatidylinositol 3-kinase in the development of hepatocyte preconditioning. *Gastroenterology* 2004;127(3):914-23.
56. Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* 1998;50(3):413-92.
57. Teoh N, Dela Pena A, Farrell G. Hepatic ischemic preconditioning in mice is associated with activation of NF-kappaB, p38 Kinase, and cell cycle entry. *Hepatology* 2002;36(1):94-102.
58. Izuishi K, Fujiwara M, Hossain MA, Husuki H, Maeta H. Significance of phosphoinositide 3-kinase pathway on ischemic preconditioning followed by ischemia reperfusion in mice liver. *Transplant Proc* 2003;35(1):132-3.
59. Schulte G, Fredholm BB. Signalling from adenosine receptors to mitogen-activated protein kinases. *Cell Signal* 2003;15(9):813-27.
60. Tong H, Chen W, Steenbergen C, Murphy E. Ischemic preconditioning activates phosphatidylinositol-3-kinase upstream of protein kinase C. *Circ Res* 2000;87(4):309-15.
61. Ricciardi R, Meyers WC, Schaffer BF, Kim RD, Shah SA, Wheeler SM, Donohue SE, Sheth KR, Callery MP, Chari RS. Protein kinase C inhibition abrogates hepatic ischemic preconditioning response. *J Surg Res* 2001;97(2):144-9.
62. Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, Bagnati M, Albano E. Ischemic preconditioning reduces Na(+) accumulation and cell killing in isolated rat hepatocytes exposed to hypoxia. *Hepatology* 2000;31(1):166-72.
63. Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, Albano E. Stimulation of p38 MAP kinase reduces acidosis and Na(+) overload in preconditioned hepatocytes. *FEBS Lett* 2001;491(3):180-3.

64. Brazil DP, Park J, Hemmings BA. PKB binding proteins: Getting in on the Akt. *Cell* 2002;111(3):293-303.

65. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2001;181(2):160-6.

10. Veröffentlichte Teilaspekte

Vortrag: Effects of Ischemic Preconditioning on Plasma Purines after warm Liver Ischemia: Presentation of Data from a Clinical study.

Trauma Sepsis Inflammation Research Group, University of Cincinnati, 20. Januar 2004 in Cincinnati, USA.

Poster-Präsentation: Martignoni A, Choukèr A, Schauer R, Dugas M, Schachtner T, Kaufmann I, Peter K, Thiel M. Alpha-Gluthathione S-Transferase: an early clinical Marker of hepatic Ischemia Reperfusion Injury.

6th World Congress on Trauma, Shock, Inflammation and Sepsis, March 2nd-6th 2004 in Munich, Germany.

Poster-Präsentation: T. Schachtner, A. Choukèr, R. Schauer, M. Dugas, A. Martignoni, M. Niklas, B. Pollwein, H. Rau, M. Thiel. Hämodynamische Auswirkungen des Pringle-Manövers bei der offenen Leberteilresektion: Effekte der ischämischen Präkonditionierung.

13. Workshop für experimentelle und klinische Lebertransplantation und Hepatologie, 20.-22. Juni 2001 in Wilsede.

Poster-Präsentation: A. Choukèr, A. Martignoni, R. Schauer, M. Dugas, HG Rau, M. Thiel. Zentralvenöse und portalvenöse Purinspiegel während ischämischer Präkonditionierung der Leber.

12. Workshop für experimentelle und klinische Lebertransplantation und Hepatologie, 28.-30. Juni 2001 in Wilsede.

Poster-Präsentation: A. Martignoni, A. Choukèr, R. Schauer, M. Dugas, HG Rau, M. Thiel. Effekte ischämischer Präkonditionierung bei der Leberteilresektion auf Funktionen polymorphkerniger Leukozyten.

12. Workshop für experimentelle und klinische Lebertransplantation und Hepatologie, 28.-30. Juni 2001 in Wilsede.

Publikation: Chouker A, Martignoni A, Schauer RJ, Dugas M, Schachtner T, Kaufmann I, Setzer F, Rau HG, Lohe F, Jauch KW, Peter K, Thiel M. Alpha-

glutathione S-transferase as an early marker of hepatic ischemia/reperfusion injury after liver resection. *World J Surg.* 2005;29(4):528-34.

Publikation: Chouker A, Martignoni A, Schauer R, Dugas M, Rau HG, Jauch KW, Peter K, Thiel M. Beneficial effects of ischemic preconditioning in patients undergoing hepatectomy: the role of neutrophils. *Arch Surg.* 2005;140(2):129-36.

Publikation: Chouker A, Schachtner T, Schauer R, Dugas M, Lohe F, Martignoni A, Pollwein B, Niklas M, Rau HG, Jauch KW, Peter K, Thiel M. Effects of Pringle manoeuvre and ischaemic preconditioning on haemodynamic stability in patients undergoing elective hepatectomy: a randomized trial. *Br J Anaesth.* 2004;93(2):204-11.

Publikation: Chouker A, Martignoni A, Schauer RJ, Rau HG, Volk A, Heizmann O, Dugas M, Messmer K, Peter K, Thiel M. Ischemic Preconditioning Attenuates Portal Venous Plasma Concentrations of Purines following Warm Liver Ischemia in Man. *Eur Surg Res.* 2005;37(3):144-52.

11. Danksagung

Ich möchte meinen Dank Herrn Prof. Dr. Dr. Klaus Peter für die Unterstützung dieser Studie und die Bereitstellung meines Arbeitsplatzes aussprechen. Ebenso gilt dieser Dank auch Herrn Prof. Dr. Friedrich Schildberg und Herrn Prof. Dr. Karl-Walter Jauch für die Kooperation der Chirurgischen Klinik mit der Klinik für Anästhesiologie. In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch bei den chirurgischen Kollegen Herrn PD. Dr. Horst-Günter Rau und PD. Dr. Rolf Schauer sowie Dr. Oleg Heizmann bedanken.

Ein herzliches Dankeschön den Mitarbeitern im Labor der Klinik für Anästhesiologie für die Verarbeitung der Proben, insbesondere Herrn Stefan Meindl und Frau Marion Hörl für die Bestimmung der Purine.

Herrn Prof. Dr. Manfred Thiel möchte ich auf das Herzlichste danken. Seine ruhige und bedachte Persönlichkeit, sein unerschöpfliches Wissen und seine Fähigkeit, in der Diskussion schwierige Probleme mit einfachen Lösungen zu versehen, verdienen meinen tiefsten Respekt. Aufgrund seines persönlichen Einsatzes und durch seinen offenherzigen und hilfreichen Charakter hat Herr Dr. Alexander Chòuker wesentlich zum Gelingen dieser Studie beigetragen. Durch die zusammen im OP verbrachte Zeit hat sich eine nicht nur professionelle Freundschaft entwickelt, die ich überaus schätze.

Ich danke besonders meinen Eltern für die Unterstützung während meiner Ausbildung und den Glauben an mich. Bedanken möchte ich mich auch bei meinem Bruder Marc und meiner Schwester Franca.

Ohne die Unterstützung und den Antrieb durch meine Frau Antonie wäre diese Arbeit nie zustande gekommen.

12. Curriculum Vitae

André Martino Martignoni

- 1975 Geboren am 11.01. als zweiter Sohn der Eheleute Peter Martignoni und Jutta Martignoni, geb. Roth, in Augsburg, Deutschland
- 1981 Einschulung in die Johannes-Strauss-Volksschule, Augsburg
- 1985 Besuch des Holbein-Gymnasiums Augsburg
- 1994 Erlangen der Hochschulreife am Holbein-Gymnasium Augsburg
- 1995 Immatrikulation im Fach Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU), München
- 1997 Ärztliche Vorprüfung an der LMU
- 1998 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der LMU
- 2001 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der LMU
- 2002 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der LMU
Arzt im Praktikum an der Klinik für Anästhesiologie im Klinikum Großhadern der LMU
- 2003 Fellowship am Department of Surgery, Trauma Sepsis Inflammation Research Group, University of Cincinnati, USA
Eheschließung mit Antonie Klara Martignoni, geb. Steiner
- 2005 Assistenzarzt an der Klinik für Anästhesiologie im Klinikum Großhadern der LMU
Geburt des Sohnes Luis Alvaro Martignoni