

**AUS DEM LEHRSTUHL FÜR INNERE MEDIZIN I
PROF. DR. MED. MARTINA MÜLLER-SCHILLING
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG**

**WIRKUNG VON NEUROPETID Y (NPY) AUF DIE
ENDOTHELIN-1-VERMITTELTE VASOKONSTRIKTION
IM MESENTERIALEN GEFÄßBETT BEI PRÄHEPATISCHER
PORTALER HYPERTENSION DER RATTE**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Humanmedizin
der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg**

vorgelegt von
Franziska Eva Charlotte Schwan

aus
Regensburg

2015

**AUS DEM LEHRSTUHL FÜR INNERE MEDIZIN I
PROF. DR. MED. MARTINA MÜLLER-SCHILLING
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG**

**WIRKUNG VON NEUROPETID Y (NPY) AUF DIE
ENDOTHELIN-1-VERMITTELTE VASOKONSTRIKTION
IM MESENTERIALEN GEFÄßBETT BEI PRÄHEPATISCHER
PORTALER HYPERTENSION DER RATTE**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Humanmedizin
der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg**

vorgelegt von
Franziska Eva Charlotte Schwan

aus
Regensburg

2015

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Torsten E. Reichert
1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Reiner Wiest
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Stefan Fichtner-Feigl
Tage der mündlichen Prüfung: 16. Juni 2015 (Bern), 30. Juni 2015 (Regensburg)

MEINER FAMILIE

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	9
1 Einleitung	13
1.1 Portale Hypertension.....	14
1.1.1 Definition	14
1.1.2 Hämodynamik	14
1.1.3 Pathogenese	16
1.1.4 Komplikationen.....	17
1.1.4.1 Gastrointestinale Blutung.....	18
1.1.4.2 Aszites	20
1.2 Hyperdynamies Zirkulationssyndrom	20
1.2.1 Pathogenese	22
1.2.2 Komplikationen.....	30
1.2.2.1 Hepatopulmonales Syndrom.....	31
1.2.2.2 Hepatorenales Syndrom	32
1.3 Neuropeptid Y (NPY).....	33
1.3.1 Struktur.....	35
1.3.2 Rezeptoren	35
1.3.3 Wirkungsweise.....	36
1.4 Endothelin-1.....	37
1.4.1 Struktur.....	38
1.4.2 Rezeptoren	39
1.4.3 Wirkungsweise.....	40
1.5 Ziel der Studie	41
2 Material und Methoden	43
2.1 Material.....	43
2.1.1 Substanzen	43
2.1.2 Geräte.....	44
2.2 Methoden	47
2.2.1 Tiermodell.....	47
2.2.2 Induktion der prähepatischen portalen Hypertension	47
2.2.3 In-vitro Perfusion	49

2.2.4	Versuchsprotokoll.....	53
2.2.5	Kritik der Methodik.....	56
3	Ergebnisteil	57
3.1	Statistik	57
3.2	Potenzierende Wirkung des NPY auf die Endothelin-1-vermittelte Vasokonstriktion	59
3.3	EC ₅₀ -Werte.....	63
4	Diskussion.....	66
5	Zusammenfassung und Ausblick.....	72
6	Quellenverzeichnis.....	77
6.1	Abbildungsverzeichnis.....	77
6.2	Tabellenverzeichnis	78
6.3	Literaturverzeichnis.....	78
7	Danksagung	89
8	Curriculum vitae	90
9	Eidesstattliche Erklärung.....	92

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
A.	Arteria
ADH oder AVP	Antidiuretisches Hormon, Adiuretin, Vasopressin oder Arginin-Vasopressin
ANOVA	Analysis of variance
AMS	Arteria mesenterica superior
AT II	Angiotensin II
CaCl ₂	Calciumchlorid-Dihydrat
CCl ₄	Tetrachlorkohlenstoff
CGRP	Calcitonin Gene-Related Peptide
CO	Kohlenstoffmonoxid
EC ₅₀ ≅ ED ₅₀	Mittlere effektive Konzentration ≅ Mittlere effektive Dosis (pharmakologisch)
ECE-1	Endothelin converting enzyme
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
E _{max}	Maximale Antwort, die durch einen Stoff erzielt werden kann (pharmakologisch)

eNOS	Stickstoffmonoxid-Synthase (in Endothelzellen)
ET-1	Endothelin-1
ET-2	Endothelin-2
ET-3	Endothelin-3
et al.	Et alteri (lat. und andere)
EVL	Endoskopische Ligatur der Ösophagusvarizen (engl. endoscopic variceal ligation)
F	Portal-venöser Blutfluss
g	Gramm
G-Protein	Guaninnucleotid-bindendes Protein
H ₂ O	Wasser
HBV	Hepatitis B Virus
HCV	Hepatitis C Virus
HPS	Hepatopulmonales Syndrom
HRS	Hepatorenales Syndrom
HZS	Hyperdynamies Zirkulationssyndrom
iNOS	Stickstoffmonoxid-Synthase (in Makrophagen, Gliazellen)

KCl	Kaliumchlorid
KHL	Krebs-Henseleit-Lösung
KH_2PO_4	Kaliumdihydrogenphosphat
l-NAME	N-nitro-l-arginine methyl ester
LT	Leukotriene
M	Molare Masse
MgSO_4	Magnesiumphosphat-Heptahydrat
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
NA	Noradrenalin
Na^+	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO_3	Natriumhydrogencarbonat
NE	Norepinephrin oder Noradrenalin
nNOS	Stickstoffmonoxid-Synthase (in Neuronen)
NO	Nitric-oxide = Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase

NPY	Neuropeptid Y
PVL-Ratte	Portal-venös ligierte Ratte
R	Intrahepatischer Gefäßwiderstand
Rmax	Maximale Druckantwort
Sham	Engl. für Schein-; entspricht der Kontroll-Gruppe, bzw. -Ratte
SP	Substanz P
s.o.	Siehe oben
s.u.	Siehe unten
TIPS	Transjugulärer-intrahepatischer-portosystemischer Shunt
TXA2	Thromboxan-A2
U.v.a.m.	Und viele andere mehr
u.v.m.	Und viele mehr
V.	Vena
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
vs.	Versus (lat. gegen)
z.B.	Zum Beispiel

1 Einleitung

Eine Suche auf den Seiten der größten wissenschaftlichen Datenbank im World Wide Web NLM Pubmed zu den Schlagwörtern Neuropeptid Y (13.172), Portale Hypertension (27.664) und Leberzirrhose (95.252) verdeutlicht mit beeindruckenden Zahlen an wissenschaftlichen Publikationen das immense Forschungsinteresse auf diesen Gebieten.

Viele Menschen weltweit sind vom Krankheitsbild der Leberzirrhose betroffen. Dabei ist ihre Ätiologie vielseitig. Die Alkohol-induzierte Lebererkrankung und die Hepatitis C sind in der westlichen Welt die häufigsten Ursachen. Die genaue Prävalenz der Leberzirrhose weltweit ist unbekannt (Schuppan and Afdhal 2008).

Chronische Lebererkrankungen sind weltweit für einen großen Anteil an Morbidität und Mortalität der Menschen verantwortlich. In den Vereinigten Staaten von Amerika wurde in den letzten Jahren eine Änderung in der Prävalenz der verschiedenen Arten von chronischen Lebererkrankungen festgestellt. Insgesamt stieg dort die Prävalenz von 11.78% (1988-1994) auf 15.66% (1999-2004) und nahm dann mit 14.78% (2005-2008) wieder leicht ab. Während derselben Periode zeigte sich die Prävalenz von Hepatitis B Virus (HBV) Infektion (0.36%, 0.33%, 0.34%), Hepatitis C Virus (HCV) Infektion (1.95%, 1.97%, 1.68%) und alkoholischer Lebererkrankung (1.38%, 2.21%, 2.05%) gleichbleibend.

Im Gegensatz dazu steigerte sich die Prävalenz der nichtalkoholischen Steatohepatitis (Younossi et al. 2011). Chronische Lebererkrankungen bei älteren Menschen nehmen insgesamt zu (Frith et al. 2009).

Leberzirrhose beschreibt histologisch die Entstehung von Regeneratknoten, welche von fibrösen Fasern umgeben werden, als Reaktion auf den chronischen Leberschaden. Dies wiederum führt zur portalen Hypertension und einer

chronischen Lebererkrankung im Endstadium (Schuppan and Afdhal 2008). Leberzirrhose ist die häufigste Ursache der portalen Hypertension in der westlichen Welt (Martell et al. 2010; Rodriguez-Vilarrupla et al. 2007; Bari and Garcia-Tsao 2012).

1.1 Portale Hypertension

Die portale Hypertension ist die wichtigste Komplikation der Leberzirrhose und ist direkt für zwei ihrer schlimmsten und potenziell tödlichen Komplikationen verantwortlich: Die Varizenblutung und den Aszites (Garcia-Tsao 2001; R.Wiest et al. 2000).

Die Ursachen der portalen Hypertension sind vielseitig und würden in ihrer genauen Ausführung den Rahmen dieser Arbeit übersteigen. Zusammenfassend lässt sich aber feststellen, dass prähepatische, intrahepatische und posthepatische Ursachen unterschieden werden. Insgesamt stellt die Leberzirrhose die häufigste Ursache dar und wurde in zahllosen Arbeiten untersucht (Bari and Garcia-Tsao 2012).

1.1.1 Definition

Die portale Hypertonie ist definiert als ein freier portalvenöser Druck von mehr als 10 mmHg, wobei der normale Druck bei 3-5 mmHg liegt (Bari and Garcia-Tsao 2012).

1.1.2 Hämodynamik

Die Problematik der portalen Hypertension lässt sich mit Hilfe der folgenden Gesetze beschreiben. Sie bringen die an ihr beteiligten Variablen in direkten Zusammenhang:

Nach dem Ohmschen Gesetz entspricht der Pfortaderdruck P dem Produkt von Blutfluss Q und Gefäßwiderstand R .

$$\text{Ohmsches Gesetz: } P = Q \cdot R$$

Der Gefäßwiderstand R ist wiederum nach dem Poiseuilleschen Gesetz definiert.

$$\text{Poiseuilleschen Gesetz: } R = \frac{8\eta L}{pr^4}$$

P: Pfortaderdruck

Q: Blutfluss

R: Gefäßwiderstand

η : Viskosität

L: Gefäßlänge

r: Gefäßradius

p: Gefäßdruck

Die Formeln zeigen die direkte physikalische Abhängigkeit des Pfortaderdrucks vom Gefäßwiderstand. Dieser wiederum ist direkt abhängig vom Gefäßradius in der vierten Potenz. Im Falle der in dieser Arbeit verwendeten, portalvenös ligierten Ratten (Erklärung s.u.), bedeutet das Poiseuillesche Gesetz, dass durch die Verringerung des Durchmessers der V. portae auf die Hälfte ein Druckanstieg der Pfortader auf das 16-fache des Ausgangsdruckes erfolgt. Der Blutfluss kann von der Leber selbst nicht beeinflusst werden, deswegen muss die Blutdruckregelung schon in einem vorgeschalteten System erfolgen. Dies geschieht durch die im Splanchnikusgebiet situierten Widerstandsgefäße. (Wiest et al. 2000)

Das Durchblutungsvolumen der Leber beträgt ca. 25% des Herzzeitvolumens und entspricht damit etwa 1500 ml Blut pro Minute. Dieses Blut stammt zu zwei Dritteln aus der Pfortader, welche das Blut aus Magen, Darm, Pankreas, Milz und Omentum sammelt und somit venöses Blut enthält. Das andere Drittel führt die A. hepatica zu (Wiest et al. 2000).

1.1.3 Pathogenese

Leberzirrhose führt zu einer Steigerung des hepatischen sinusoidalen Drucks und einer Steigerung des portalvenösen Druckgradienten. Demzufolge kommt es zu einer Steigerung der Druckdifferenz zwischen der V. portae und den systemischen Venen. (Garcia-Tsao 2001)

Der Druck steigt anfänglich als Konsequenz des wachsenden Widerstandes auf den portalen Blutfluss, der in allen Abschnitten (Äste der V. portae, innerhalb der Leber, Sinusoide, Lebervenenaustrakt) des intrahepatischen Gefäßbettes stattfindet. Diese Obstruktion wird hauptsächlich durch die Veränderung der Leberstrukturen (fibröser Umbau des Lebergewebes, Regeneratknoten, Kollagenablagerungen im Disse Raum) hervorgerufen (Garcia-Tsao 2001; Dib et al. 2006).

Primär erfolgt auch ein Anstieg des intrahepatischen Gefäßtonus, der pharmakologisch beeinflusst werden kann. Diese reversible Komponente macht 20-30% des gesteigerten intrahepatischen Widerstandes aus (Bhathal and Grossman 1985).

Anatomisch gesehen entsteht die V. portae aus der V. mesenterica superior und der V. splenica, folglich wird der portal-venöse Einstrom durch die Kontraktion oder Dilatation der splanchnischen Widerstandsgefäße determiniert (Minano and Garcia-Tsao 2010).

Die portale Hypertension ist durch ein gesteigertes Herzzeitvolumen, sowie einen verminderten systemischen Gefäßwiderstand gekennzeichnet, welche in dem hyperdynamen Zirkulationssyndrom mit mesenterialer und systemischer arterieller Vasodilatation resultieren. Die mesenterial-arterielle Dilatation führt zu einem erhöhten portalen Blutfluss, welcher wiederum eine Verstärkung des portalen Hochdrucks bewirkt. Die mesenterial-arterielle Dilatation wird durch die exzessive Ausschüttung von endogenen Vasodilatoren, wie z.B.

Stickstoffmonoxid, Glucagon und vasoaktivem intestinalem Peptid (VIP) hervorgerufen (Dib et al. 2006).

Zwei Hauptfaktoren tragen zur Entstehung und Aufrechterhaltung der portalen Hypertension maßgeblich bei: der Gefäßwiderstand und der gesteigerte mesenteriale Blutfluss (Martell et al. 2010).

1.1.4 Komplikationen

Auch die Komplikationen, welche eine portale Hypertension verursachen kann, sind vielfältig. Abbildung 1 zeigt schematisch, welche Stadien zwischen der chronischen Entzündung und schließlich der manifesten chronischen portalen Hypertonie auftreten können.

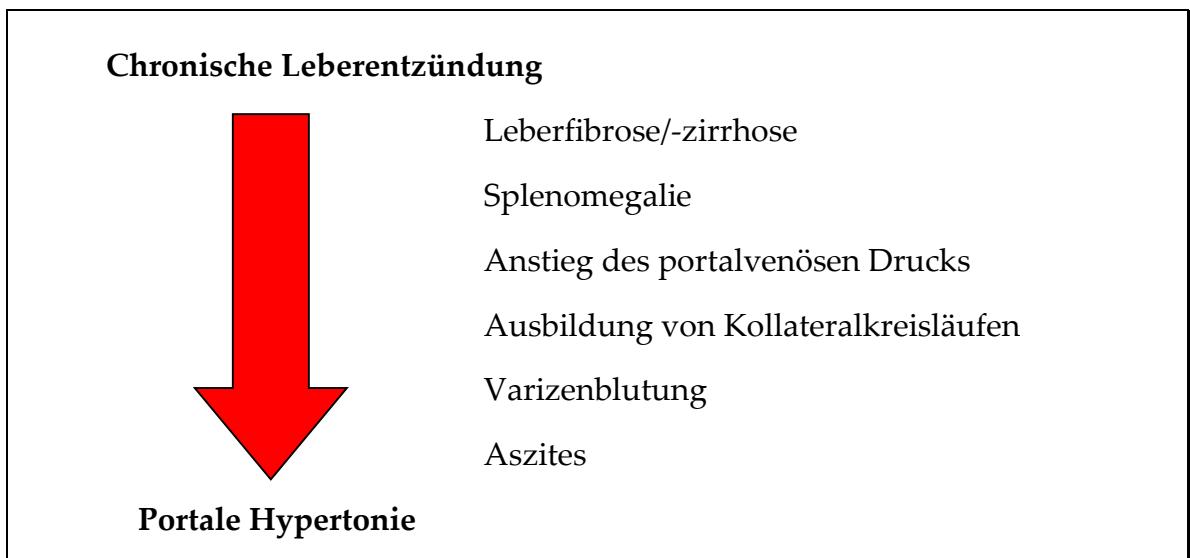


Abbildung 1: Sequenz der Pathologien bei chronischer Lebererkrankung;

Sequenz der möglichen auftretenden Pathologien bei Patienten mit chronischer Lebererkrankung, von der chronischen Leberentzündung bis hin zur Portalen Hypertonie. Modifiziert nach (Maruyama and Yokosuka 2012)

Steigt der portalvenöse Druck über 10 mmHg an, können Komplikationen wie Aszites, hepatorenales Syndrom, hepatische Enzephalopathie oder gastrointestinale Blutungen auftreten (Garcia-Tsao et al. 1985; Martell et al. 2010).

Nachdem es sich hier ebenfalls um ein sehr umfangreiches Thema handelt, kann im Folgenden nur kurz auf die schwerwiegendsten Komplikationen eingegangen werden.

1.1.4.1 Gastrointestinale Blutung

Ein erhöhter portalvenöser Druckgradient führt zur Ausbildung von portosystemischen Kollateralen. Diese sind allerdings nicht in der Lage, das portalvenöse System ausreichend zu entlasten, da der portale Widerstand insgesamt höher ist als beim gesunden Organismus (Sikuler and Groszmann 1986).

Alle Faktoren, welche die portale Hypertension verschlimmern können, können auch das Risiko einer Varizenblutung steigern. Zu nennen sind z.B. eine Verschlechterung der Lebererkrankung, eine verminderte Nahrungsaufnahme, Alkoholkonsum, ein nicht Einhalten des zirkadianen Rhythmus, körperliche Anstrengung und ein gesteigerter intraabdomineller Druck. Des Weiteren können auch Medikamente wie Acetylsalicylsäure und andere nichtsteroidale Antirheumatika die Varizenwand verändern und damit das Blutungsrisiko steigern. (Dib et al. 2006; Garcia-Pagan et al. 1996; Luca et al. 1997; Dell'era and Bosch 2004; Lee et al. 1988; Garcia-Pagan et al. 1994)

Therapeutisch stehen je nach klinischem Stadium verschiedene Alternativen zur Verfügung. Stadium 1 umfasst Patienten mit Leberzirrhose und Portaler Hypertension ohne Ausbildung von Ösophagusvarizen, die noch keiner spezifischen Therapie bzgl. einer Blutungsprophylaxe bedürfen hier gilt es die Grunderkrankung zu behandeln. Im Stadium 2 haben die Patienten bereits Ösophagusvarizen ausgebildet, aber nie geblutet und sollten daher präventiv bzgl. einer Ruptur behandelt werden. Man unterscheidet die Patienten weiter nach der Ausprägung der Varizen und nach der Child Klassifikation in hoch-Risiko Patienten und niedrig-Risiko Patienten. Bei hohem Risiko für Blutungen wird aktuell die Anwendung von nicht-selektiven Betablockern (z.B. Propranolol) als

ähnlich effektiv wie die endoskopische Ligatur der Varizen (engl. endoscopic variceal ligation, EVL) angesehen. Der Patient im Stadium 3 leidet unter einer akuten Ösophagusvarizenblutung. Hier werden initial vasoaktive Substanzen wie Terlipressin verabreicht und umgehend eine EVL eingeleitet. Falls diese misslingt, muss eine Sklerotherapie der Varizen durchgeführt werden. Patienten bei denen die Kombinationstherapie (Endoskopie und Blutdrucksenkung) kurz- oder mittelfristig versagt, können einem transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunt (TIPS) zugeführt werden. Stadium 4 beinhaltet Patienten, die eine Blutungsepisode überlebt haben. Das Risiko einer erneuten Blutung ist sehr hoch (60%) mit einer Mortalität bis zu 33%. Patienten, die im Akutstadium der ersten Varizenblutung einen TIPS erhalten haben, müssen sonographisch verlaufskontrolliert werden. (Bari and Garcia-Tsao 2012)

Der größere Anteil an Patienten ohne TIPS benötigt nach Beendigung der Akuttherapie mit vasoaktiven Substanzen eine Therapie mit nicht-selektiven Betablockern um das Risiko einer Rezidivblutung zu minimieren (Bernard et al. 1997; Bari and Garcia-Tsao 2012). Eine Kombinationstherapie aus EVL und pharmakologischer Therapie zeigt eine niedrigere Rezidivblutungsneigung als jede der Therapien für sich. Die niedrigste Rate an Rezidivblutungen zeigen Patienten, die mit Hilfe einer pharmakologischen Therapie einen portalvenösen Druck unter 12 mmHg erreichen (Bari and Garcia-Tsao 2012).

Orloff et al. zeigten, dass die Anlage eines chirurgischen Shunts in Zentren, welche dieses Verfahren optimiert haben und anbieten, im Falle einer Ösophagusvarizenblutung eine sehr gute Therapieoption darstellt. Die Varizenblutung konnte bei allen in die Studie eingeschlossenen Patienten unter Kontrolle gebracht werden, der Shunt okkludierte so gut wie nie, verlängerte das Langzeit-Überleben der Patienten im Vergleich zur Sklerotherapie oder TIPS und verursachte wesentlich weniger Kosten als die anderen beiden Verfahren (Orloff 2014).

1.1.4.2 Aszites

Aszites ist eine der Hauptkomplikationen von Leberzirrhose und portaler Hypertension und ist mit einer sehr schlechten Prognose für den Patienten assoziiert. Zunächst ist es wichtig, die Ursache des Aszites herauszufinden. Bei 75–85% der Patienten mit Aszites ist die Leberzirrhose für dessen Entstehung verantwortlich. Bei ca. 15-25% aller Patienten können u. a. Lebertumore, Herzversagen, Pankreatitis oder Tuberkulose ursächlich sein. (Moore et al. 2003; Biecker 2011)

Man unterscheidet zwei Formen des Aszites: die unkomplizierte Form, welche sich in drei Grade untergliedert und die therapierefraktäre Form (Moore et al. 2003).

Die Therapieoptionen sind je nach Ausprägung unterschiedlich und reichen von Kochsalz-restriktiven Diäten über die diuretische Therapie mit Spironolacton, Parazentese, die Anlage eines TIPS bis hin zur Lebertransplantation. Mögliche Komplikationen des Aszites sind die spontan bakterielle Peritonitis, sowie das Hepatorenale Syndrom. (Biecker 2011)

Bernardi et al. konnten in Ihrer 2012 durchgeführten Metaanalyse zeigen, dass besonders bei einer großvolumigen Parazentese die Substitution von Albumin die Morbidität und Mortalität der Patienten mit ausgeprägtem Aszites im Vergleich zu alternativen Behandlungen (Volumenexpander wie Dextran, Gelatine, Hydroxyethylstärke, hypertone Kochsalzlösung) deutlich reduziert (Bernardi et al. 2012).

1.2 Hyperdynamisches Zirkulationssyndrom

1953 beschrieben Kowalski und Abelmann als Erste anhand der klinischen Beobachtung von Patienten mit Leberzirrhose, welche warme Extremitäten, Spider nävi, eine hohe Pulsamplitude und Kapillarpuls an den Fingernägeln zeigten, das

klinische Bild des hyperdynamen Zirkulationssyndroms (KOWALSKI and ABELMANN 1953).

Laut Iwakiri und Groszmann lässt sich das hyperdynamen Zirkulationssyndrom am treffendsten als „progressive vasodilatory syndrome“, also als Syndrom der zunehmenden Vasodilatation, beschreiben, da diese den entscheidenden Faktor für die Entstehung der vaskulären Veränderungen darstellt und schließlich zur Multiorganbeteiligung führt (Iwakiri and Groszmann 2006). Diesen Vorgang verdeutlicht Abbildung 2.

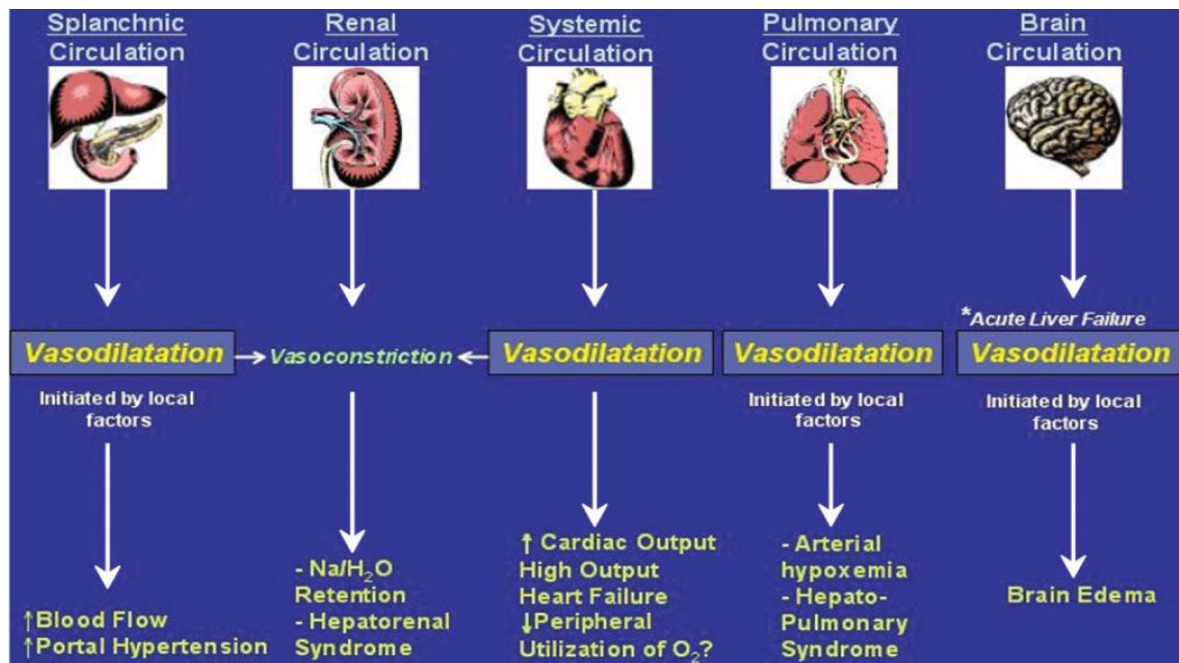


Abbildung 2: Vasodilatation und ihre Wirkung auf die Organsysteme

Im splanchnischen Gefäßbett kommt es aufgrund der Vasodilatation zu einer Erhöhung des Blutflusses und einer Steigerung der portalen Hypertension. Diese Vasodilatation führt im renalen Gefäßbett zu einer Vasokonstriktion mit der Folge einer Na⁺ und H₂O Retention und des hepatorenalen Syndroms. Auch der systemische Kreislauf reagiert mit einer Erhöhung des Herzzeitvolumens und/ oder Herzversagen und möglicherweise sogar mit einer erniedrigten peripheren Sauerstoffausschöpfung auf die Vasodilatation und ist somit ebenfalls ursächlich für die renale Vasokonstriktion mit den eben beschriebenen Folgen. Bezogen auf den pulmonalen Kreislauf bewirkt die Vasodilatation einen Hypoxämie sowie das hepatopulmonale Syndrom. Über das Gefäßbett des Gehirns kann die Vasodilatation die Ursache eines Hirnödems sein. (Grafik aus (Iwakiri and Groszmann 2006))

Für die konservative Behandlung der portalen Hypertension gibt es hauptsächlich Medikamente, welche dieser Vasodilatation entgegenwirken und die damit den

portalvenösen Einfluss verringern sollen (Groszmann and Abralde 2005; Iwakiri and Groszmann 2006).

Über die Jahre kristallisierte sich heraus, dass nicht nur ein Parameter für dieses Syndrom verantwortlich ist. Es zeigte sich jedoch, dass allen voran Stickstoffmonoxid, ein biologisch aktives Gas, für die Vasodilatation sowie die daraus entstehenden multiplen Organdysfunktionen, welche die hyperdynamische Zirkulation charakterisieren, verantwortlich ist (Groszmann 1994; Wiest et al. 1999b; Iwakiri and Groszmann 2006).

Auf die Pathogenese des hyperdynamischen Zirkulationssyndroms soll im Folgenden genauer eingegangen werden.

1.2.1 Pathogenese

Die arterielle Vasodilatation stellt die Kernpathophysiologie in der Entstehung des hyperdynamischen Zirkulationssyndroms bei der portalen Hypertension dar (Groszmann 1994). Dieses Phänomen tritt innerhalb des Krankheitsbildes bereits früh auf und betrifft in erster Linie die mesenteriale, splanchnische Durchblutung. Im Allgemeinen werden Durchblutung und Blutdruck durch das Zusammenspiel von Reflexketten (humoralen und lokalen Gefäß-Kontroll-Mechanismen) geregelt. Die arterielle Vasodilatation innerhalb der splanchnischen Zirkulation ist der Trigger, der durch die Verursachung einer relativen arteriellen Hypovolämie zur Stimulation der kardiopulmonalen-Volumen-Rezeptoren (Herzvorhof, rechter Ventrikel und im pulmonalen Kreislauf) sowie der arteriellen Barorezeptoren (Karotissinus, Aortenbogen, juxtaglomerulärer Apparat der Nieren) führt. Des Weiteren aktiviert diese relative arterielle Hypovolämie das sympathische Nervensystem und das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System sowie die hypothalamische Ausschüttung von Arginin-Vasopressin (antidiuretisches Hormon, ADH). Die Mediatoren dieser Systeme bewirken in der Folge Salz- und Wasserretention und damit insgesamt eine Plasmavolumenvermehrung. Diese

kompensatorischen Mechanismen sollen zu einer Normalisierung des effektiv vorhandenen arteriellen Blutvolumens innerhalb der zentralen Blutzirkulation führen. Tatsächlich spiegelt dieses Kompartiment das kleinste flüssigkeitsgefüllte Kompartiment des Körpers wieder. Deswegen müssen auf dieser Ebene sehr genaue Regulationsmöglichkeiten, wie durch oben genannte Rezeptoren gewährleistet, existieren. Bei der dekompensierten Leberzirrhose bleibt das effektiv zur Verfügung stehende Blutvolumen trotz der Plasmavolumenvermehrung erniedrigt, da ein großer Anteil dieses Volumens dazu benötigt wird, den dilatierten splanchnischen Gefäßkreislauf aufzufüllen. Dies wiederum bedeutet eine splanchnische Poolbildung. Eine starke Blutvolumenzunahme führt wiederum zur Stress-Relaxation des Gefäßsystems und das Herzzeitvolumen normalisiert sich nach dem initialen Anstieg wieder. Eine Erhöhung des intravasalen Blutvolumens reicht also nicht aus, das hyperdynamische Zirkulationssyndrom zu erklären. Erst die Kombination der arteriellen Vasodilatation (verminderte kardiale Nachlast) und der intravasalen Blutvolumenzunahme bildet die Voraussetzung zur Aufrechterhaltung des hyperdynamischen Zirkulationssyndroms bei portaler Hypertension. (Wiest 2007)

Wie Sikuler und Groszmann zeigten, genügt ein hoher portalvenöser Einstrom per se bei einer gesunden Leber nicht, um eine portale Hypertension zu induzieren. Allerdings ist er ein Schlüsselfaktor für die Aufrechterhaltung oder Verschlimmerung einer portalen Hypertonie, wenn in dem Organismus ein erhöhter Widerstand für den portalen Ausstrom besteht (Sikuler and Groszmann 1986).

Kommen nun aber die beiden Faktoren „erhöhter portal-venöser Einstrom“ und „erhöhter intrahepatischer Widerstand“ zusammen, entsteht die Notwendigkeit einer neuen Abflussmöglichkeit für das portal-venöse Blut und es kommt zwangsläufig zur Ausbildung portosystemischer Kollateralkreisläufe. Der Gefäßwiderstand der Kollateralgefäße ist zwar deutlich niedriger, als der

intrahepatische Widerstand einer zirrhotischen Leber, jedoch insgesamt immer noch höher als der intrahepatische Widerstand einer gesunden Leber. Daraus folgt, dass die Kollateralkreisläufe zu einer teilweisen Dekompression des portal-venösen Systems führen, aber die portale Hypertension trotzdem bestehen bleibt. (Wiest 2007).

Die Stickstoffmonoxid-Überproduktion spielt eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung des hyperdynamen Zirkulationssyndroms, weil es maßgeblich zur arteriellen Vasodilatation beiträgt und die vaskuläre Reaktivität auf Vasokonstriktoren vermindert. Während die eNOS die enzymatische Quelle der erhöhten Stickstoffmonoxid Synthese zu sein scheint und die Hochregulation der eNOS in dem mesenterialen und systemischen Gefäßbett bei portaler Hypertension geschieht, bleibt die initiale Ursache der Überproduktion des Stickstoffmonoxid unklar. Es scheint allerdings unwahrscheinlich, dass diese ausschließlich sekundär auf die hyperdynamen Zirkulation oder die Scherkräfte, welche durch den Blutfluss auf das Endothel der Arterien wirkt zurückzuführen ist. (Wiest and Groszmann 1999; Hadoke and Hayes 1997)

Abbildung 3 veranschaulicht die komplexen Zusammenhänge des hyperdynamen Zirkulationssyndroms mit seinen vielfältigen Metaboliten und Einflussgrößen.

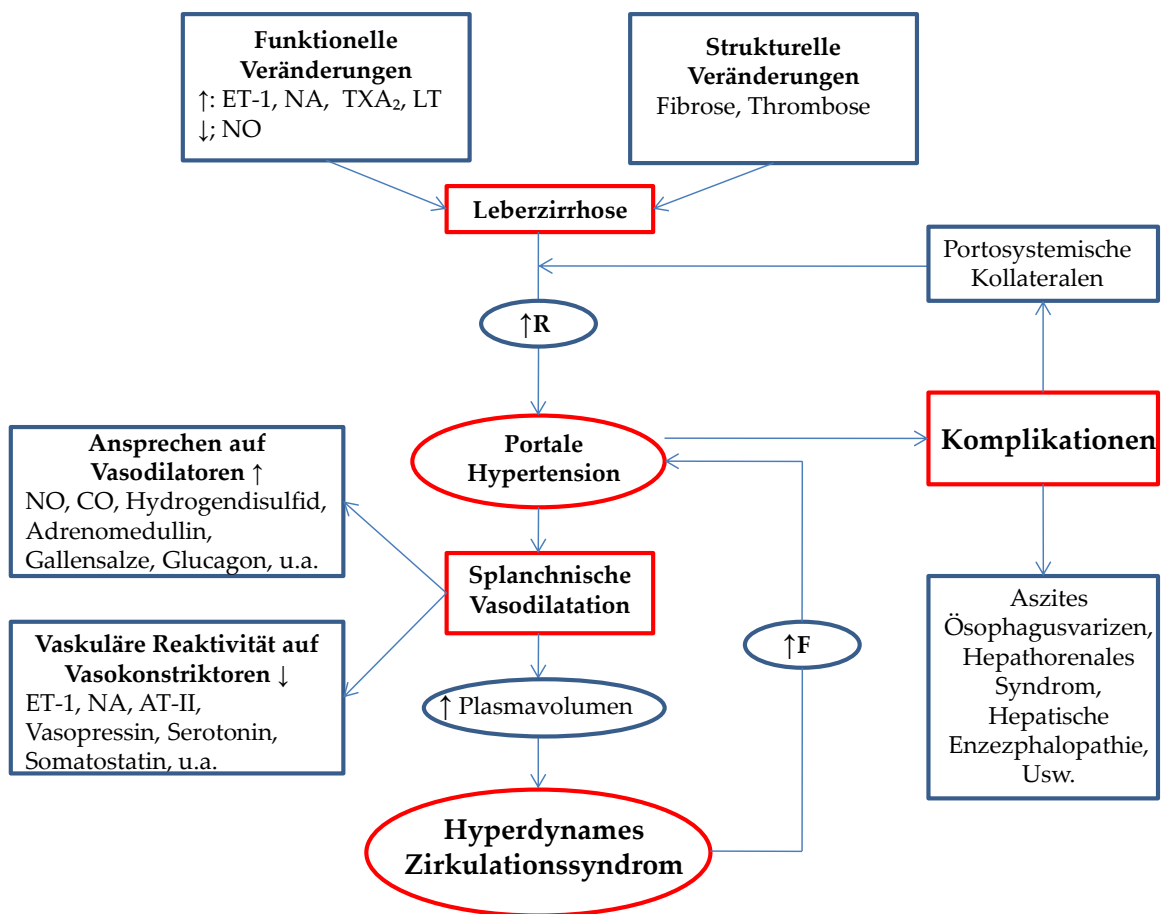


Abbildung 3: Vasokonstriktoren bei splanchnischer Vasodilatation

Darstellung der Pathophysiologie des hyperdynamen Zirkulationssyndroms. (Modifikation nach (Martell et al. 2010)

- ET-1: Endothelin-1
- NA: Noradrenalin
- TXA2: Thromboxan-A2
- LT: Leukotriene
- NO: Stickstoffmonoxid
- R: Intrahepatischer Gefäßwiderstand
- CO: Kohlenstoffmonoxid
- AT-II: Angiotensin II
- F: Portal-venöser Blutfluss

Die vaskuläre Hyporeaktivität bei portaler Hypertension auf verschiedene Vasokonstriktoren und Vasodilatoren wurde in vielen verschiedenen Studien, teils tierexperimentell, teils an Zirrhosepatienten, an verschiedenen Gefäßbetten und mit unterschiedlichen Methoden der Induktion der portalen Hypertonie oder Leberzirrhose erforscht (Polio et al. 1993; Vorobioff et al. 1983; Bomzon and Blendis 1987; Sieber and Groszmann 1992b; Castro et al. 1993; Sogni et al. 1996; Huang et al.

1996; Colle et al. 2004; Kiel et al. 1985). Die Ursache dieser vaskulären Hyporeaktivität konnte abschließend noch nicht eindeutig geklärt werden, allerdings sprechen viele Ergebnisse dafür, dass hierfür die gesteigerte Aktivität der Vasodilatoren, eine verminderte Reaktivität auf Vasokonstriktoren, die Rezeptor-Downregulation, Veränderungen bei der kontraktilen Signaltransduktion und das vaskuläre Remodelling eine wichtige Rolle spielen (Hadoke and Hayes 1997; Hennenberg et al. 2008). Letztlich sind die genauen Pathomechanismen, welche zu ihrer Entstehung führen aber weiterhin unklar (Colle et al. 2004).

Die Divergenz der vielen existierenden Arbeiten erschwert Vergleiche zwischen den einzelnen Studien. Nachfolgend werden einige Studien exemplarisch angeführt.

Kiel et al. zeigten mit ihren Studienergebnissen an PVL-Ratten mit portaler Hypertension, dass es im Vergleich zu den Kontrollratten zu einer signifikanten Reduktion der durch Norepinephrin auslösbaren mesenterialen Vasokonstriktion kommt. Sie fanden heraus, dass eine signifikant größere molare Konzentration an Norepinephrin nötig ist, um den gleichen proportionalen Anstieg des mesenterialen Gefäßwiderstands bei portal-hypertensiven Ratten zu erzielen. Die mittlere effektive Dosis oder Konzentration ($ED_{50} \triangleq EC_{50}$, s.o.) an Norepinephrin war in der portal-hypertensiven Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe. (Kiel et al. 1985)

Sieber und Groszmann bestätigten mit ihren in vitro Studien am perfundierten mesenterialen Gefäßbett von PVL-Ratten, dass die portale Hypertension mit einer Hyporeaktivität gegenüber dem α 1-adrenergen Vasokonstriktor Methoxamin vergesellschaftet ist und dass lokal freigesetztes Stickstoffmonoxid in der Versuchsreihe für die verminderte Gefäßkontraktion verantwortlich ist (Sieber and Groszmann 1992a). Auch andere Arbeitsgruppen belegten eine verminderte Reaktivität des mesenterialen Gefäßbettes bei portaler Hypertension auf Methoxamin (Wiest et al. 1999b; Shah et al. 1999). In einer zweiten Arbeit konnten

Sieber und Groszmann die Hyporeaktivität auch gegenüber Noradrenalin, Vasopressin-Arginin (syn. Antidiuretisches Hormon, ADH) und Kaliumchlorid nachweisen und auch hier wiesen sie als Ursache der Hyporeaktivität die erhöhte Stickstoffmonoxid-Ausscheidung bei portaler Hypertension aus (Sieber and Groszmann 1992b).

Hartleb et al belegten 1994 eine vaskuläre Hyporeaktivität im Sinne einer verminderten Druckantwort gegenüber Endothelin -1 bei zirrhotischen Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren. Durch L-NAME (L-Nitro-Arginin Methylester) einen Inhibitor der Stickstoffmonoxid-Biosynthese kommt es zu einer Linksverschiebung der Dosis-Wirkung-Kurve des Endothelin-1 bei zirrhotischen Ratten, also zu einer Abnahme der mittleren effektiven Dosis ED_{50} (diese entspricht der mittleren effektiven Konzentration EC_{50}) und zu einer signifikanten Erhöhung der maximalen Druckantwort durch Endothelin-1 (R_{max}) (Hartleb et al. 1994).

In der Arbeit von Hennenberg et al. konnte gezeigt werden dass es bei Ratten und Menschen mit Leberzirrhose zu einer verminderten vaskulären Kontraktilität gegenüber Angiotensin II kommt. (Hennenberg et al. 2007)

Auch Sogni et al. beschäftigten sich mit dem Nachweis der vaskulären Hyporeaktivität, indem sie zeigen konnten, dass es bei Ratten mit portaler Hypertonie (hier induziert durch die Ligatur der V. portae) zu einer verminderten Vasokonstriktion von Arterien dritten Grades des mesenterialen Gefäßbett durch die Vasokonstriktoren Kaliumchlorid und Phenylephrin im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren kommt. Acetylcholin (10^{-5} M) wurde zu den präkontrahierten (mit KCL 45 mM) Arterien zugegeben um die Endothel-abhängige Relaxation zu untersuchen. Eine Inkubation mit L-NAME oder mit Indomethacin einem spezifischen Inhibitor der Cyclooxygenase, wurde durchgeführt um die individuelle Rolle des Stickstoffmonoxid und der Prostaglandine auf die durch Kaliumchlorid (45 mM) induzierte Vasokonstriktion zu testen. Sie wiesen weiterhin nach, dass die Blockade der Stickstoffmonoxid-Synthetase bei gesunden Tieren

keinen Einfluss auf die Stärke der Vasokonstriktion von gesunden Tieren hatte, aber sehr wohl die Vasokonstriktion durch KCL bei den PVL-Tieren steigerte. Diese Ergebnisse lieferten den Nachweis, dass es auch in den mesenterialen Arterien dritten Grades von PVL-Ratten eine Hyporeaktivität auf Vasokonstriktoren gibt und diese von der vermehrten Produktion von Stickstoffmonoxid abzuhängen scheint. (Sogni et al. 1996)

Zu den vielen Studien die Rezeptor-abhängige Mechanismen für die Entstehung der vaskulären Hyporeaktivität verantwortlich machen steht die Arbeit von Murray und Paller etwas im Kontrast. Sie beschreiben anhand eines Leberzirrhosemodells an Ratten (durch CCl_4 = Tetrachlorkohlenstoff induziert), dass es eine Hyporeaktivität der mesenterialen Arterien auf AT-II, nicht aber auf Norepinephrin gibt. Die Hyporeaktivität war dabei nicht von der vorbestehenden Belegung der Rezeptoren durch AT-II abhängig, obwohl es Nachweise für eine Aktivierung des RAS gab. Sie fanden heraus, dass es bei Leberzirrhose zu einer Abnahme der Rezeptoraffinität auf der einen Seite, aber auch zu einer Zunahme an Rezeptoren auf der anderen Seite kam. Dies legt den Schluss nahe, dass die Ursache der Hyporeaktivität auf dem Versagen der Rezeptor Down-Regulation beruhen könnte. Da die Bindung von AT-II bei Zirrhose-Tieren unverändert war, schlossen die Autoren, dass für die Hyporeaktivität auf AT-II ein Post-Rezeptor Defektes im AT II Mechanismus verantwortlich sein muss. (Murray and Paller 1985)

Im Gegensatz dazu konnte in der in vivo-Studie von Colle et al. dargelegt werden, dass es bei Ratten mit Leberzirrhose und portaler Hypertension zu einer verminderten Reaktion des mesenterialen Arterie durch Endothel-abhängige (Acetylcholin) und unabhängige (deta-NONOate, Pinacidil) Vasodilatoren, wie auch Vasokonstriktoren (L-Phenylephrin) kommt. Die generalisierte Hyporeaktivität spricht für eine Veränderung auf der Ebene der vaskulären glatten Muskelzelle. Diese Hyporeaktivität persistiert nach kombinierter NO-Synthase- und Cyclooxygenase-Hemmung. (Colle et al. 2004)

Auch an Gefäßpräparaten der Aorta wurde die vaskuläre Hyporeaktivität untersucht:

Durch die Arbeit von Ortiz et al. wurde die vaskuläre Hyporeaktivität gegenüber Phenylephrin an ringförmigen Präparaten der Aorta von Zirrhose-Ratten (induziert durch eine Gallengangsligatur) im Vergleich zu Kontroll-Ratten nachgewiesen. Die Hyporeaktivität wurde durch den Einsatz von L-NAME aufgehoben. In den Präparaten ohne Endothel wurde die Hyporeaktivität reduziert, aber nicht komplett beseitigt. Weiterhin fanden sie heraus, dass die Endothel-abhängige Vasodilatation durch Acetylcholin bei Präparaten, die mit Phenylephrin präkontrahiert wurden, in beiden Versuchsgruppen ähnlich stark ausfiel. Eine Vorbehandlung mit L-NAME und Entfernung des Endothels hob den Effekt durch Acetylcholin sowohl bei den Präparaten der Zirrhose-Ratten als auch der Kontrollen auf. Durch diese Ergebnisse schlossen die Autoren, dass eine erhöhte Produktion an Stickstoffmonoxid, hauptsächlich endothelialen Ursprungs, für die verminderte Vasokonstriktion durch Phenylephrin verantwortlich ist. Im Kontrast dazu belegen sie, dass es in diesem Zirrhose-Modell keine veränderten vasodilatativen Effekte durch Acetylcholin gibt. (Ortiz et al. 1996)

Bomzon und Blendis untersuchten die kontraktile Wirkung von Norepinephrin bei PVL-Ratten an Streifen, die aus der thorakalen Aorta gewonnen wurden und wiesen eine Hyporeaktivität gegenüber dem Vasokonstriktor auch an diesem Gewebe nach (Bomzon and Blendis 1987).

Auch Castro et al. untersuchten die vaskuläre Hyporeaktivität an ringförmigen Aorta-Präparaten von Ratten mit Tetrachlormethan-induzierter Leberzirrhose und Aszites. Sie konnten eine verminderte Reaktivität gegenüber Angiotensin II nachweisen, und halten Stickstoffmonoxid für den auslösenden Faktor. Die Wirkung konnte durch die Deendothelisierung des Versuchsgefäßes und die Anwendung von L-NAME aufgehoben werden. (Castro et al. 1993)

Abbildung 4 bildet das sensible System der vaskulären Reaktivität ab.

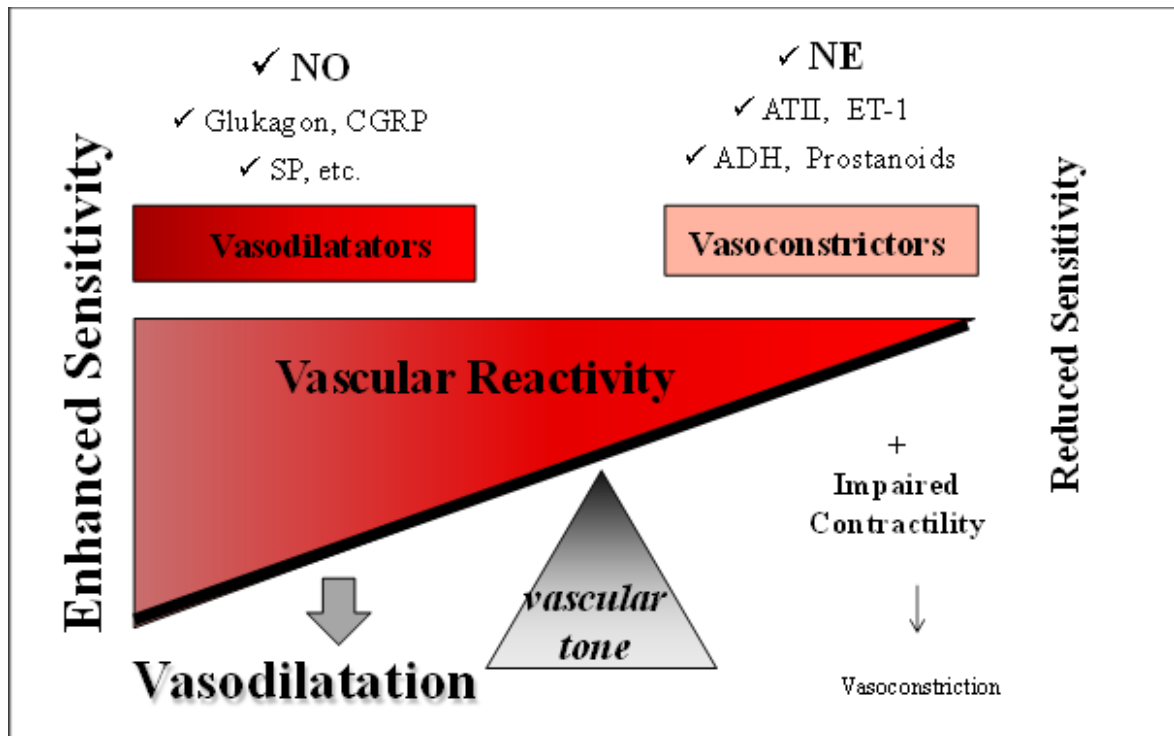


Abbildung 4: Vaskuläre Reaktivität im Rahmen des HZS

Darstellung der Pathophysiologie der vaskulären Reaktivität und Ihrer Einflussfaktoren von Prof. Dr. med. Reiner Wiest.

Der vaskuläre Tonus ist ein sensibles Konstrukt auf das viele Einflussfaktoren wirken. Entscheidend ist, dass Vasodilatoren und Vasokonstriktoren im Gleichgewicht zueinander wirken. Im Rahmen des Hyperdynamen Zirkulationssyndroms gerät dieses System in eine Dysbalance. Auf vaskuläre Dilatatoren (u.a. Stickstoffmonoxid) zeigt sich eine gesteigerte Sensitivität im Sinne einer vaskulären Hyperreaktivität, die konsekutiv zu einer verstärkten Vasodilatation führt. Demgegenüber steht eine verminderte Sensitivität, also eine vaskuläre Hyporeaktivität der Zielgefäße auf die vaskulären Vasokonstriktoren (u.a. Endothelin-1, Angiotensin II, oder Noradrenalin). Dies führt zu einem folgenschweren Ungleichgewicht in Bezug auf den vaskulären Muskeltonus zu Gunsten der Vasodilatation.

NO: Stickstoffmonoxid

CGRP: Calcitonin Gene-Related Peptide

SP: Substanz P

NE: Norepinephrin = Noradrenalin

AT-II: Angiotensin II

ET-1: Endothelin-1

ADH: Antidiuretisches Hormon

1.2.2 Komplikationen

Die klinischen Folgen einer generalisierten arteriellen Vasodilatation und damit des hyperdynamen Zirkulationssyndroms beschränken sich, wie oben schon erwähnt,

nicht auf die hepato-splanchnische Zirkulation. Wie in Abbildung 2 (s.o.) dargestellt, können viele Organsysteme betroffen sein. Nachfolgend soll auf zwei Syndrome genauer eingegangen werden.

1.2.2.1 Hepatopulmonales Syndrom

Unter dem hepatopulmonalen Syndrom (HPS) versteht man eine pulmonale vaskuläre Störung, welche klinisch durch Leberdysfunktion (üblicherweise mit portaler Hypertension), arterielle Hypoxämie und intrapulmonale Gefäßdilatation charakterisiert wird (Iyer et al. 2012). Das HPS betrifft zwischen fünf und 32 Prozent der Patienten, die für eine Lebertransplantation gelistet sind (Rodriguez-Roisin and Krowka 2008; Iyer et al. 2012). Es kann bei jedem Schweregrad der Lebererkrankung von der gut kompensierten chronischen Lebererkrankung ohne Zirrhose, über portale Hypertension ohne Zirrhose, bis hin zur portalen Hypertension mit Zirrhose, auftreten. Außerdem wurde es bei Patienten mit akutem Leberversagen beschrieben (Rodriguez-Roisin et al. 2004). Für das hepatopulmonale Syndrom scheint nach derzeitigem Kenntnisstand die intrapulmonale Vasodilatation ursächlich zu sein (Palma and Fallon 2006; Porres-Aguilar et al. 2012). Sie führt zu einem verminderten arteriellen Gasaustausch, was wiederum in einer arteriellen Hypoxämie durch fehlende Oxygenierung resultiert. Hierfür sind drei Mechanismen verantwortlich: Das Ungleichgewicht bei Ventilation und Perfusion, die intrapulmonale Shuntbildung und die eingeschränkte Sauerstoffdiffusion. Es wird vermutet, dass die Entstehung der intrapulmonalen vaskulären Dilatation mit der Zunahme des pulmonalen Stickstoffmonoxids (engl. nitric oxide, NO) zusammenhängt. Der Zusammenhang von Leberversagen, portaler Hypertension und erhöhten NO-Spiegeln ist bis jetzt nicht komplett verstanden, scheint aber mit dem Anstieg der Produktion von Endothelin-1 in der Leber vergesellschaftet zu sein. Durch höhere Endothelin-1-Level wird wiederum die Produktion von ET_B-Rezeptoren (nähere Ausführung s.u.) angeregt. Die genauen Pathomechanismen sind noch unklar. (Palma and Fallon 2006; Porres-Aguilar et al. 2012)

Klinisch zeigt sich üblicherweise ein schleichender Beginn der Atemnot, besonders bei Belastung; dieses Zeichen ist allerdings unspezifisch (Palma and Fallon 2006). Weitere Kennzeichen sind Trommelschlegelfinger, Zyanose und Spider nävi (Porres-Aguilar et al. 2012).

Bislang ist die Lebertransplantation die einzige Therapie, die eine signifikante Verbesserung oder sogar Heilung des HPS bewirken kann (Iyer et al. 2012). Die Mortalität beim HPS hängt eng mit der Schwere der Lebererkrankung zusammen, welche am MELD (Model of endstage liver disease)- oder CTP (Child-Turcotte-Pugh)- Score gemessen wird (Iyer et al. 2012; Porres-Aguilar et al. 2012; Houlihan et al. 2012).

1.2.2.2 Hepatorenales Syndrom

Das hepatorenale Syndrom (HRS) wird definiert als Auftreten eines akuten Nierenversagens bei Patienten mit Leberzirrhose im Endstadium nach Ausschluss anderer Ursachen (Davenport et al. 2012).

Das Kennzeichen des HRS ist die ausgeprägte renale Vasokonstriktion, welche schon früh bei Patienten mit Lebererkrankung auftritt, sogar schon bevor die renale Dysfunktion klinisch auffällt (Wadei 2012).

Die Ätiologie der renalen Vasokonstriktion ist wesentlich komplexer als vorerst angenommen. Zunächst wurde vermutet, dass sie ausschließlich durch die arterielle Vasodilatation entsteht (Epstein et al. 1970). Nach neuestem Kenntnisstand ist allerdings die progrediente Verschlechterung der kardialen Funktion mitverantwortlich für die Entstehung des HRS (Wadei 2012).

Beim HRS unterscheidet man zwei Formen. Beim Typ 1 kommt es zu einer plötzlichen Verschlechterung der Nierenfunktion. Diese folgt auf ein auslösendes Ereignis. Das HRS Typ 1 kann somit bei einem stabilen Leberzirrhose-Patient oder einem Patienten mit HRS vom Typ 2 auftreten. Das HRS Typ 2 präsentiert sich als das schwerwiegendste Stadium der hämodynamischen Dysfunktion, das sich bei

Zirrhose-Patienten entwickeln kann, und ist von einer fortschreitenden Abnahme der Nierenfunktion über Wochen, manchmal Monate, geprägt. Diese hämodynamischen Veränderungen durchlaufen beim Zirrhose-Patienten verschiedene Stadien vom Präaszites, über den Diuretika-sensitiven, bis hin zum Diuretika-resistenten Aszites und schließlich zum HRS. Sie sind charakterisiert durch mesenteriale Vasodilatation, reduziertes effektives arterielles Blutvolumen, hyperdynamische Zirkulation mit gesteigertem Herzzeitvolumen, reduzierten systemischen Gefäßwiderstand, Vasokonstriktion von verschiedenen extrasplanchnischen Gefäßbetten (inklusive der renalen und zerebralen Durchblutung), gesteigerte Aktivität des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), des sympathischen Nervensystems und der Osmose-unabhängigen Ausschüttung von Vasopressin. Medikamentöse und nicht-medikamentöse Interventionen wurden zur Überbrückung bis zur Lebertransplantation unternommen und haben das kurzfristige Überleben der HRS-Patienten verbessert. Allerdings bleibt die Langzeit-Überlebensrate ohne Lebertransplantation infaust. (Wadei 2012)

Beim HRS scheint auch ET-1 eine entscheidende Rolle zu spielen. So wurden in diesem Stadium erhöhte ET-1-Plasmaspiegel gemessen. Die Annahme wird auch dadurch bestätigt, dass es nach Lebertransplantation zur Absenkung des ET-1-Spiegels kommt, ebenso wie nach Anlage eines TIPS. Bei akutem Verschluss des TIPS steigt die ET-1-Konzentration dagegen wieder sprunghaft an und es kommt zur Verminderung des renalen Blutflusses. (Moore 2004; Bachmann-Brandt et al. 2000; Moore et al. 1992; Kapoor et al. 2003)

1.3 Neuropeptid Y (NPY)

Neuropeptid Y ist ein Polypeptid, das aus 36 Aminosäuren besteht. 1980 wurde das dem pankreatischen Peptid (50% Homologie), sowie dem Peptid YY (70% Homologie) sehr ähnliche Peptid erstmals durch K. Tatemoto et al. beschrieben

(Tatemoto et al. 1982). Die Forschergruppe isolierte es aus Schweinedarm und Hirn. Sie nannten das neue Peptid Neuropeptid Y, da es an seinem C- und N-terminalen Ende die Aminosäure Tyrosin aufweist und es vornehmlich durch Neuronen synthetisiert und ausgeschüttet wird. Das sind im peripheren Nervensystem vor allem sympathische Neurone. (Tatemoto et al. 1982; Sundler et al. 1986; Larhammar 1996)

Im zentralen Nervensystem wird NPY zusammen mit Noradrenalin in sekretorischen Vesikeln der sympathischen Nerven gespeichert und auch zusammen ausgeschüttet (Lundberg et al. 1990; Shine et al. 1994). Es ist mitverantwortlich für die Aufrechterhaltung des Blutdrucks (Shine et al. 1994). Hohe NPY-Konzentrationen finden sich in den sympathischen Nervenenden, die die koronaren, die zerebralen und die renalen Gefäße versorgen. Wird es in diese Gefäßbetten infundiert, bewirkt es eine verlängerte Vasokonstriktion. Am wichtigsten ist dabei zu werten, dass NPY zur Potenzierung der Vasokonstriktion durch andere drucksteigernde Agenzien, wie z.B. Noradrenalin, ATP und Histamin führt (McDermott et al. 1993; Shine et al. 1994).

NPY kann bei allen Wirbeltieren nachgewiesen werden und hat sich im Lauf der Evolution so gut wie nicht verändert; es gilt als sehr stark konserviert. Das lässt im Umkehrschluss auf die funktionelle Bedeutung dieses Peptids schließen (Larhammar 1996; Shine et al. 1994). NPY, Peptid YY und das Pankreatische Polypeptid werden von 94 bis 95 Aminosäure-Prohormonen prozessiert und werden in die sogenannte NPY-Familie gruppiert (Brothers and Wahlestedt 2010). Diese Gruppe aus Peptiden bildet ein Multirezeptor-/ Multiliganden-System, welches aus vier Rezeptoren beim Menschen und den drei Polypeptiden (NPY, PYY, PP) besteht. Die Bindungsaffinität und Stärke der Aktivierung sind unterschiedlich. Bezieht man sich auf die pharmakologischen Eigenschaften verhält sich NPY wie ein Neurotransmitter, wogegen PYY und PP als neuroendokrine Hormone fungieren. (Pedragosa-Badia et al. 2013)

1.3.1 Struktur

Alle zur NPY-Familie gehörenden Peptide sind 36 Aminosäuren lang. Die Strukturformel in Abbildung 5 zeigt schematisch die einzelnen Strukturen des Peptids.

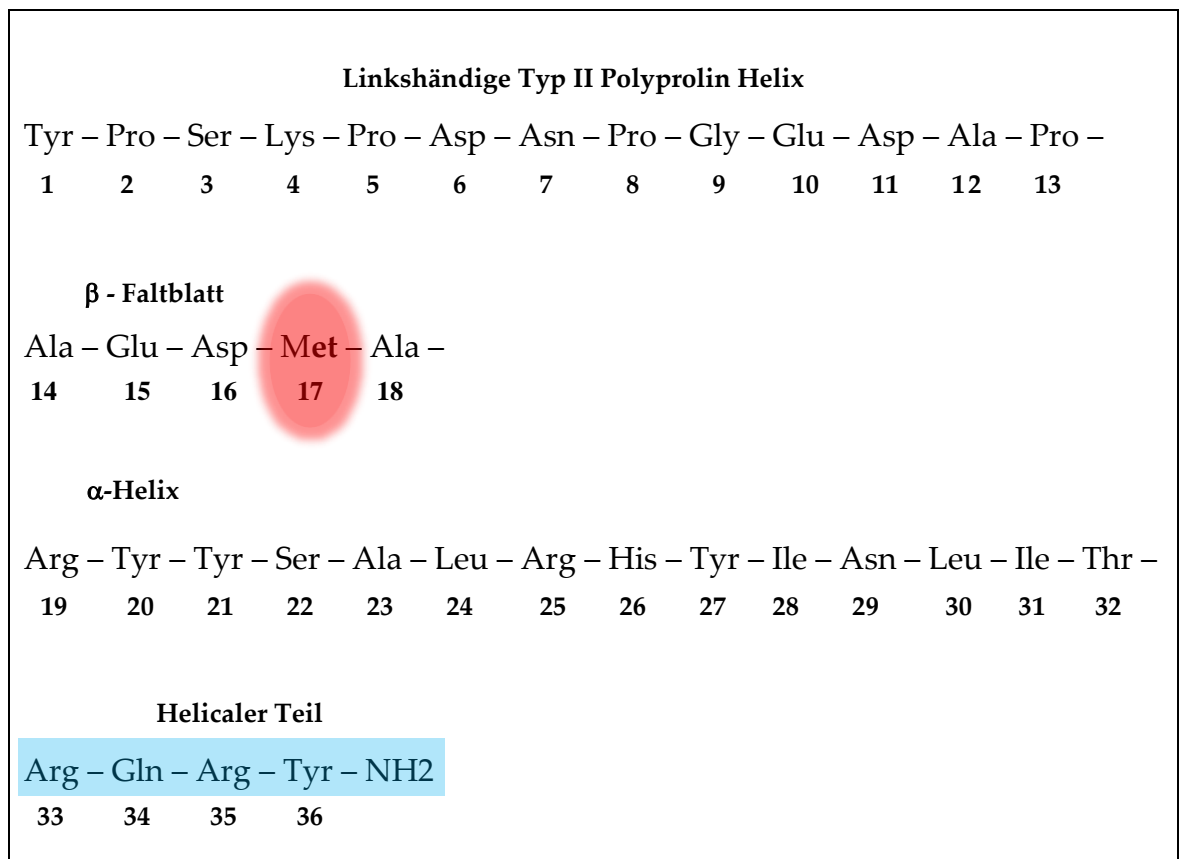


Abbildung 5: NPY-Struktur

Struktureller Aufbau von NPY aus den Aminosäuren. Bei Mensch, Ratte, Hase und Meerschwein ist die Strukturformel des Polypeptids identisch. Beim Schwein und Rind befindet sich an Position 17 die Aminosäure Leucin. Sonst ist die Struktur identisch zur dargestellten Form nach (McDermott et al. 1993).

1.3.2 Rezeptoren

Die NPY-Rezeptoren gehören zur Klasse A oder Rhodopsin-ähnlichen G-Protein gekoppelten Rezeptoren (class A oder rhodopsin-like G-protein coupled receptors, GPCR). Bislang konnten fünf Rezeptoren, die in Säugetieren vorkommen, geklont werden. Dies sind Y₁, Y₂, Y₄, Y₅ und Y₆. Die Y₁-, Y₂-, Y₄- und Y₅-Rezeptoren kommen

beim Menschen vor und der Y_6 -Rezeptor nur bei Hasen und Mäusen. (Pedragosa-Badia et al. 2013; Starback et al. 2000)

Die Existenz eines Y_3 -Rezeptorsubtyps wurde von verschiedenen pharmakologischen Studien an Geweben von Menschen, Ratten und Hasen angenommen. Bislang waren jedoch alle Versuche, diesen Rezeptor zu klonen, erfolglos. Dies macht seine Existenz eher unwahrscheinlich. (Pedragosa-Badia et al. 2013)

1.3.3 Wirkungsweise

NPY hat Einfluss auf viele wichtige physiologische Parameter, mit eingeschlossen die psychomotorische Aktivität, Nahrungsaufnahme, zentrale endokrine Sekretion, Angstzustände und außerdem starke vasoaktive Effekte auf das kardiovaskuläre System (Shine et al. 1994). Während NPY potent den mittleren arteriellen Druck und den Gefäßwiderstand in vivo sowohl beim Tier, als auch beim Menschen verstärkt, hat es wenig oder keinen Einfluss auf die unmittelbare Gefäßkontraktion von Ratten (Andriantsitohaina and Stoclet 1988; Clarke et al. 1987; Grundemar and Hogestatt 1992). NPY potenziert in mesenterialen Arteriolen 3. Grades der Ratte, die von α_1 -Adrenozeptor-Agonisten induzierte Vasokonstriktion. NPY in sehr geringer Konzentration (100 nM) verursacht eine Linksverschiebung der Dosis-Wirkungskurven von Noradrenalin und Phenylephrine. (Andriantsitohaina and Stoclet 1990)

Studien haben gezeigt, dass es unter dem Einfluss von NPY nicht zu Veränderungen in der Anzahl oder dem Bindungsverhalten von α -Adrenozeptoren in den Blutgefäßen von Ratten kommt (Pernow et al. 1986; Agnati et al. 1983). NPY bindet im mesenterialen Gefäßbett hauptsächlich postsynaptisch an den Y_1 -Rezeptor (Wahlestedt et al. 1990; McAuley and Westfall 1992; Fuhlendorff et al. 1990; Wiest et al. 2006). In mikromolaren oder noch geringeren Dosen (50 nm) hat NPY keinen direkten vasokonstriktiven Effekt (Wiest et al. 2006; Moleda et al. 2011; Grundemar et al. 1992).

1.4 Endothelin-1

Endothelin-1, kurz ET-1, das 1988 von japanischen Wissenschaftlern, Yanagisawa et al. entdeckt wurde, gilt als der stärkste Vasokonstriktor in biologischen Systemen (Yanagisawa et al. 1988). Es wurde bislang hauptsächlich in Bezug auf das kardiovaskuläre System untersucht (Yanagisawa et al. 1988; Moore 2004; Attina et al. 2005). Auch seine Rolle im Rahmen von Lebererkrankungen steht im Interesse der Wissenschaft (Moore 2004; Cavasin et al. 2010). Firth et al. fanden heraus, dass sehr niedrige Konzentrationen von Endothelin intensive lang anhaltende Vasokonstriktion im renalen Gefäßbett verursachen. Sie vermuteten, dass Endothelin im Kreislauf in niedrigen Konzentrationen vorhanden ist, und dass bei Ereignissen wie akutem Nierenversagen die Konzentration erhöht ist. Daraus folgerten sie, dass Endothelin einen Mediator in der Pathogenese des akuten Nierenversagens darstellen könnte. (Firth et al. 1988)

Auch beim hepatorenenalen Syndrom scheint Endothelin eine Rolle zu spielen. Das HRS wird durch renale Vasokonstriktion und die verminderte glomeruläre Perfusion charakterisiert; beides könnte durch ET-1 verursacht werden. (Moore 2004)

1992 gab es mehrere Studien zu erhöhten Plasma-Endothelin-Spiegeln bei Lebererkrankungen (Uemasu et al. 1992; Moore et al. 1992). Gandhi et al. zeigten als Erste, dass ET-1-Infusionen unter in vitro-Bedingungen bei einer Rattenleber zu gesteigertem portalen Druck führen (Gandhi et al. 1990). Es wird angenommen, dass Endothelin funktionelle Auswirkungen auf den portalen Druck und die Mikrozirkulation der Leber hat und damit auch in der Entwicklung und Aufrechterhaltung der portalen Hypertension eine Rolle spielt. Es kommt zur gesteigerten ET-1-Synthese in der Leber und auch zu einer Hochregulierung der ET_B-Rezeptoren. Bis dato ist allerdings unklar, welche Mechanismen zur gesteigerten Synthese des ET-1 bei Lebererkrankungen führen. (Moore 2004)

Nachgewiesenermaßen erzeugt Endothelin-1 einen vasokonstriktiven Effekt im systemischen Kreislauf und in regionalen Gefäßbetten wie dem portalen, hepato-kollateralen, renalen, bronchialen und kutanen Gefäßbett. Der Effekt wird hierbei durch die systemische Vasokonstriktion erzielt, die für die Endothelin-1-induzierte arterielle Vasokonstriktion verantwortlich ist. (Hartleb et al. 1994).

ET-1 verursacht eine protrahierte Vasokonstriktion in vitro und in vivo. Bezogen auf das nachfolgend beschriebene Versuchsmodell nach McGregor (s. u.) wird ET-1 schnell aus der Zirkulation mit einer Halbwertszeit von 30-60 Sekunden entfernt und sogleich von verschiedenen Enzymen metabolisiert sowie von der Krebs-Henseleit Lösung (s.u.) ausgespült. (Perez-Vizcaino et al. 1995)

1.4.1 Struktur

Die Familie der Endotheline besteht aus drei nah verwandten Peptiden ET-1, ET-2 und ET-3. Jedes setzt sich aus 21 Aminosäuren zusammen und wird von verschiedenen Genen codiert. Abbildung 6 stellt schematisch die Aminosäuresequenz der wichtigsten Isoform Endothelin-1 dar. Sie wird in Endothelzellen, glatten Gefäßmuskelzellen, Epithelzellen, Hepatozyten, Neuronen und Astrozyten produziert. Die Rolle von ET-2 und -3 bleibt, abgesehen von der embryonalen Entwicklung, unklar. (Attina et al. 2005; Moore 2004)

Das Peptid ET-1 hat bei Mensch, Ratte, Maus, Rind und Schwein dieselbe Aminosäuresequenz (Janes et al. 1994).

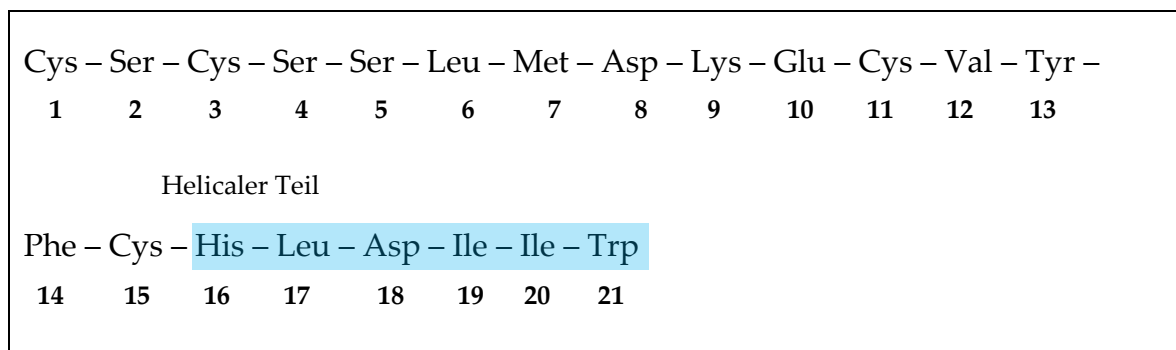


Abbildung 6: ET-1 Struktur

Struktureller Aufbau von ET-1 aus den Aminosäuren.
Dargestellt nach (Janes et al. 1994)

ET-1 wird als Antwort auf eine Reihe von Stimuli, welche je nach Gewebetyp variieren kann, generiert. Es wird hauptsächlich in endothelialen Zellen der Blutgefäße produziert und durchläuft verschiedene Reifungsschritte bis das endgültige Peptid entstanden ist. Der abschließende Schritt besteht aus der Spaltung des 38 Aminosäure langen Peptids „big ET-1“ durch die hoch selektive Membran-gebundene Metalloproteinase Endothelin converting enzyme (ECE-1). Es wurden allerdings auch von dem ECE-1 unabhängige Entstehungswege des ET-1 beschrieben. Obwohl die biologischen Effekte wahrscheinlich länger andauern, ist die Plasma-Halbwertszeit von ET-1 kleiner als zwei Minuten. Allerdings ist eine effiziente Ausschüttung im pulmonalen und renalen Gefäßbett bekannt. Dieser Ausschüttung folgen die Bindung an Oberflächen „Clearance-ET_B-Rezeptoren“ und anschließend die Internalisation und der Abbau wahrscheinlich durch Lysosomen. (Attina et al. 2005)

1.4.2 Rezeptoren

Es existieren zwei Typen von Rezeptoren, Typ A und B. Dementsprechend werden sie ET_A- und ET_B-Rezeptoren genannt (Moore 2004). Beide sind G-Protein gekoppelte Transmembranproteine mit unterschiedlichen molekularen und pharmakologischen Eigenschaften und Funktionen. Bindet ET-1 an sie, bewirkt dies die Aktivierung des Phosphatidylinositol-Phospholipase C-Pfades und startet eine

Abfolge intrazellulärer Ereignisse, welche Kurz- und Langzeiteffekte, wie z.B. die Steigerung des intrazellulären Calciumlevels, die Aktivierung der Proteinkinase C und Zellkern Signalmechanismen beinhalten. Der ET_A -Rezeptor findet sich vorwiegend in den Zellen der glatten Gefäßmuskulatur und in Kardiomyozyten. Seine Interaktion mit ET-1 beruht auf Vasokonstriktion und Zellproliferation. Der ET_B -Rezeptor-ET-1-Komplex hingegen bewirkt die Ausschüttung von Stickstoffmonoxid, welches wiederum zur Vasodilatation und Prostacyclin-Freisetzung führt. Der ET_B -Rezeptor spielt eine herausragende Rolle bei der Clearance von zirkulierendem ET-1, besonders im pulmonalen und renalen Gefäßsystem. Physiologischerweise resultieren die Auswirkungen von ET-1 in einer komplexen Modulation von vasomotorischem Tonus, Ausdifferenzierung von Geweben und Zellproliferation, gesteuert durch das Zusammenspiel zwischen den Effekten am ET_A - und ET_B -Rezeptor. Experimentelle Studien vermuten, dass die Endothelin-Rezeptoren im pathologischen Organismus unterschiedlich reguliert sind, nämlich zu unkontrollierten Effekten bezüglich Vasokonstriktion und Zellproliferation führen. (Attina et al. 2005)

1.4.3 Wirkungsweise

ET-1 induziert seinen vasokonstriktiven Effekte über den ET_A -Rezeptor in der arteriellen glatten Gefäßmuskelzelle (D'Orleans-Juste et al. 1993; Rizzoni et al. 1997). Manche Arbeitsgruppen gehen von einer Vasokonstriktion vermittelt auch durch den ET_B -Rezeptor aus, Claing et al. konnten diese allerdings bei arteriellen mesenterialen Gefäßen nicht nachweisen (Claing et al. 2002). Nebenbei sei angemerkt, dass es auch an den mesenterialen Venen zu einer ET-1-vermittelten Vasokonstriktion kommt. Hier bindet es an den ET_A - und ET_B -Rezeptor (D'Orleans-Juste et al. 1993).

Die Endothelin-1-vermittelte Vasokonstriktion ist von der Unversehrtheit des kontraktilem Apparates der glatten Muskelzelle abhängig, wie auch von dem

Anstieg des freien zytosolischen Calciums (Hartleb et al. 1994). Claing et al. bewiesen, dass es durch die Bindung von ET-1 an den ET_A-Rezeptor zu einer Erhöhung der Calciumspiegel auf zytosolischer und Zellkern-Ebene, sowie zu Myokontraktionen kommt (Claing et al. 2002). Im Status der Leberzirrhose kommt es zu einer vermehrten Ausschüttung endogener Vasodilatoren (s.o.) und diese scheinen die ET-1-induzierte zytosolische Calciumausschüttung einzuschränken. Der intrazelluläre Calciumanstieg resultiert aus der Öffnung von spannungsabhängigen L-Typ-Calciumkanälen und der Aktivierung eines G-Proteins (Guaninnukleotid-bindendes Protein). Folglich kann die ET-1-induzierte Calciumausschüttung durch eine Störung dieser beiden Mechanismen vermindert werden. (Highsmith et al. 1992; Goto et al. 1989)

ET-1 ist erhöht bei Patienten und Tieren mit Zirrhose. Die genaue Rolle der Rezeptor-Subtypen in Zirrhose und portaler Hypertension wurde dabei noch nicht geklärt. (Cavasin et al. 2010)

Koseki et al. konnten bereits 1989 nachweisen, dass ET-1-Rezeptoren auch im Darm vorkommen (Koseki et al. 1989). Endothelin ist bekannt als starker Agonist für Vasokonstriktion, aber weniger bekannt als ein Effektor der Darmfunktion (Montrose 1997).

Endothelin-Rezeptor-Antagonisten (ERAs) gewinnen in der Therapie der pulmonal-arteriellen Hypertonie Bedeutung und werden klinisch auf verschiedenen Gebieten (therapieresistente Hypertonie, pulmonale Fibrose und Krebs) untersucht (Pitts 2009).

1.5 Ziel der Studie

Die vaskuläre Hyporeaktivität und die verminderte vaskuläre Kontraktilität im arteriellen mesenterialen Gefäßbett sind die pathophysiologischen Kennzeichen der Entwicklung und Aufrechterhaltung der arteriellen Vasodilatation bei portaler

Hypertonie. - Bislang konnten einige Studien die potenzierende Wirkung von NPY, vor allem auf die α 1-adrenerge Vasokonstriktion bestätigen. (Wiest et al. 2006; Benarroch 1994)

Ziel dieser Arbeit ist folgende Fragestellung zu klären:

Hat NPY Einfluss auf die ET-1-vermittelte Vasokonstriktion im mesenterialen Gefäßbett bei prähepatischer portaler Hypertension der Ratte und wenn dem so ist, wie ist diese im Vergleich zu nicht-portal-hypertensiven Kontrolltieren ausgeprägt?

2 Material und Methoden

2.1 Material

Es folgt die Auflistung der verwendeten Stoffe, Materialien und Geräte.

2.1.1 Substanzen

Substanz	Hersteller
Aqua Resist	VWR-International
Calciumchlorid-Dihydrat	J.T. Baker, Phillipsburg, USA
Carbogen (95% O ₂ ; 5% CO ₂)	Linde Technische Gase
D(+)-Glucose Monohydrat	J.T. Baker, Phillipsburg, USA
Domitor (0,2 ml = 0,05 mg Medetomidin)	Pfizer, Karlsruhe
Endothelin-1 human, porcine	Sigma, Steinheim
EDTA	Sigma, Steinheim
Ethanol (67%)	J.T. Baker, Phillipsburg, USA
Fentanyl	Curamed Pharma
Kaliumchlorid	Merck, Darmstadt

Kaliumhydrogenphosphat	J.T. Baker, Phillipsburg, USA
Magnesiumsulfat-7-Hydrat	J.T. Baker, Phillipsburg, USA
Midazolam	Curamed Pharma
NaCl, 0,9%, steril	Braun, Melsungen
Natriumchlorid, Pulver	J.T. Baker, Phillipsburg, USA
Natriumhydrogencarbonat	J.T. Baker, Phillipsburg, USA
Neuropeptid Y	Calbiochem (Merck), Darmstadt

Tabelle 1: Substanzen

2.1.2 Geräte

Gerät	Hersteller
Carbogen-Flasche	Linde Technische Gase
Drei-Wege Hahn aus Kunststoff	NeoLab, Heidelberg
Einhängethermostat C10	Haake Deutschland
Einmalspritzen, Discardit 2/ 5/ 10 ml steril	Becton-Dickinson, San Jose, USA
Glasbehälter (div. Volumina)	Schott, Mainz
Kompressen Compact, 10 cm x 10 cm	Hartmann, Heidelberg
Laborwaage, SC 2020	Ohaus, Gießen

Magnetrührer, IKAMag REO	Heidolph, Kehlheim
Microlance Kanülen (20 G, 22 G, 27 G)	Becton-Dickinson, San Jose, USA
Nahtmaterial, Ethicon Ethibond excel polyesterbeschichtet 4-0	Ethicon, Norderstedt
Nahtmaterial (vicryl, violett, 3-0, 1 mm x 1,5 m)	Ethicon, Norderstedt
P-23-Db Perfusionsdruck-Messelektrode (Transducer)	Statham, Oxnard, CA, USA
Parafilm M (250 ft x 4 in.)	Pechiney Plastic Packaging Inc., Neenah, USA
Pasteurpipetten, 5/ 10/ 20 ml	Brand, Wertheim
Perfusionsanlage	(Eigenbau) PD Dr. med R. Wiest, Uni-Regensburg
Perfusionsschlauch, 140 cm	Heidelberger Verlängerung
Perfusionsschlauch, Mikro PE: 0,5 x 1,0 mm	Reichert Chemietechnik, Heidelberg
Pipetten (10/ 100/ 1000 µl)	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen (10/100/1000µl)	Eppendorf, Hamburg
PowerLab 4/20	PowerLab/ADInstruments, Spechbach, Deutschland
Präparationsbesteck:	Aesculap, Tuttlingen

Durogrip Nadelhalter Chirurgische Pinzette Irispinzette gebogen Mikroskopierpinzette abgewinkelt Feine Schere gerade, spitz/spitz Chirurgische Schere gerade spitz/ stumpf	
Pumpe IPC 8-Kanal	Ismatec, Wertheim-Mondfeld
Pumpenschläuche, Tygon R-3607	Ismatec, Wertheim-Mondfeld
Reaktionsgefäße 1 und 2 ml	Eppendorf, Hamburg
Reaktionsgefäße 15 und 50 ml	Falcon, Heidelberg
Reinstwasseranlage, Milli-Q-Plus	Ultra Pure Water Systems, Billerica, USA
Schlauchverbindungen 2-3,5 mm	NeoLab, Heidelberg
Tablett, PS melanin	P/S KUNSTSTOFFWERKE AG, Schöppenstedt
Transducer, BLPR one 05A	World Precision Instruments Inc., Sarasota, USA
T-Stücke, Mikro 2,3-3,5 mm	NeoLab, Heidelberg
Untersuchungshandschuhe, Naturkautschuklatex, puderfrei	Hartmann, Heidelberg

Verstärker	PowerLab/ADInstruments, Heidelberg
Vortex Mixer Genie 2	Heidolph, Kehlheim
Wundklammern nach Mitchel, 7,5 mm x 1,75 mm	Aesculap, Tuttlingen

Tabelle 2: Geräte

2.2 Methoden

2.2.1 Tiermodell

Für die Versuche wurden männliche Ratten des Typs CD von Charles River mit einem Gewicht von 270–350 Gramm verwendet. Sie wurden bei konstanten Temperaturverhältnissen von 21 °C bei einem 12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus gehalten und erhielten freien Zugang zu Nahrung und Wasser. Alle Tierexperimente wurden nach den Vorschriften der Deutschen Gesellschaft für Physiologie für die Haltung und den Gebrauch von Labortieren (Nummer: 621-2531.1-23/00, Regierung der Oberpfalz) durchgeführt. Das Tiermodell zur Induktion der prähepatischen portalen Hypertension ist etabliert und kam bereits in zahlreichen Studien zum Einsatz. (Wen et al. 2009; Abraldes et al. 2006; Wiest et al. 2006; Chojkier and Groszmann 1981; u.v.a.m.)

Die Vergleichsgruppe (Sham-Ratten) wurde der gleichen nachfolgend beschriebenen Operation unterzogen, allerdings ohne Ligatur der V. portae.

2.2.2 Induktion der prähepatischen portalen Hypertension

In unserer Versuchsreihe wurde die prähepatische portale Hypertension operativ durch die partielle Ligierung der V. portae induziert. Dieses Modell wurde von Chojkier und Groszmann Anfang der 1980er Jahre entwickelt und als „partial portal vein ligated- (PVL-) Rattenmodell“ bekannt (Chojkier and Groszmann 1981). Es

zeichnet sich durch seine hohe Reproduzierbarkeit aus und hat sich vielfach bewährt (Chan et al. 2001; Wiest 2007; Vorobioff et al. 1983; Abraldes et al. 2006; Wiest et al. 2006; Bomzon and Blendis 1987; Sieber and Groszmann 1992a; Sieber and Groszmann 1992b).

Die Analgosedierung der Ratten erfolgte mit einem OP-Cocktail (Fentanyl 2 ml + Midazolam 4 ml + Domitor 3 ml + NaCl 0,9% 1 ml), der intramuskulär gespritzt wurde. Es wurde 0,1 ml/ 100 g Körpergewicht des anxiolytisch, hypnotisch und analgetisch wirkenden Anästhesiemisches verabreicht und ca. zehn Minuten gewartet bis das Versuchstier vollständig betäubt war. Anschließend wurde eine Laparotomie durchgeführt und die V. portae freipräpariert, um anschließend parallel des Gefäßes eine 20 G Kanüle zu platzieren. Um diese Kanüle und die V. portae wurde eine nicht-resorbierbare Ligatur (Vicryl, violett, 3-0, 1 mm x 1,5 m) geknüpft und anschließend die Kanüle wieder entfernt. Zurück blieb eine auf den Durchmesser der Kanüle (20 G) genormte Stenose der V. portae. Die Kontrolltiere erhielten die gleiche Operation mit Ausnahme der Ligatur der V. portae. Die Readaptation der abdominalen Muskulatur erfolgte mit einer Naht (Vicryl, violett, 3-0 mit Nadel) und der Hautverschluss danach mittels Klammerung (Wundklammern nach Mitchel, 7,5 mm x 1,75 mm).

Wen et al. beschäftigten sich mit der Stabilität dieses Modells zur Erzeugung einer prähepatischen portalen Hypertension. Ihre Messungen des portalvenösen Drucks vor der Ligierung der V. portae ergab einen durchschnittlichen Wert von 9,2 cmH₂O, was einem umgerechneten Druck von durchschnittlichen 6,8 mmHg entspricht. Bei den PVL-Ratten stieg der portal venöse Druck unmittelbar nach der Operation auf 25-30 cmH₂O (entsprechend 18-22 mmHg) an und blieb dann bis zehn Wochen nach der OP stabil bei durchschnittlich 17 cmH₂O (entsprechend 12,5 mmHg) (Wen et al. 2009). Schon ca. eine Woche nach der Operation zeigen die partiell portalvenös-ligierten Ratten (PVL-Ratten) das Vollbild der portalen Hypertension (Abraldes et al. 2006; Sikuler et al. 1985). In fast allen vorliegenden

Studien wurden die Versuchstiere zwei Wochen nach der portalvenösen Ligierung für die geplanten Versuche verwendet. (Wen et al. 2009)

In der vorliegenden Versuchsreihe wurden die Tiere im Schnitt vierzehn Tage nach dieser Operation zur Induktion der prähepatischen portalen Hypertension für die *in vitro* Perfusionsversuche verwendet.

2.2.3 In-vitro Perfusion

D. D. McGregor entwickelte das angewandte Perfusionsmodell, das seither viele Arbeitsgruppen nutzten (MCGREGOR 1965; Wiest et al. 1999a; Perez-Vizcaino et al. 1995; u.v.a.m.).

In dieser Versuchsreihe wurde eine modifizierte Version durchgeführt. Zunächst wurden die Tiere mit dem oben beschriebenen OP-Cocktail analgosediert, danach das Abdomen der Ratte eröffnet und die A. mesenterica superior (AMS) freipräpariert. Abbildung 7 zeigt den intraoperativen Situs einer gesunden Ratte.

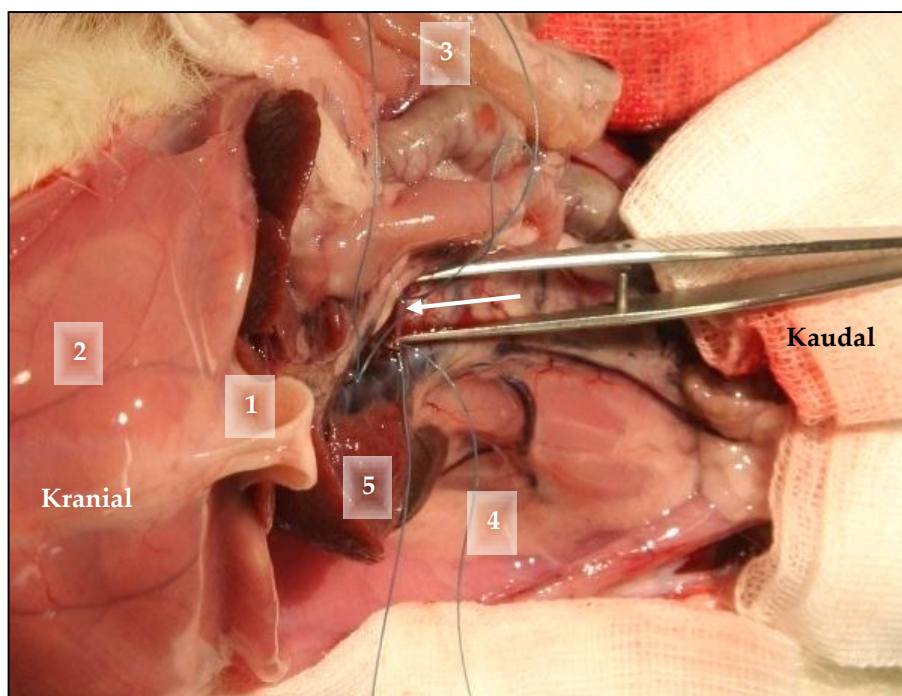


Abbildung 7: Operationssitus einer gesunden Sham-Ratte

Operationssitus einer gesunden Ratte. Das Abdomen ist eröffnet. Der Kopf der Ratte befindet sich linksseitig des Bildes, das distale Ende rechtsseitig. Der weiße Pfeil deutet auf die AMS, welche von der Pinzette aufgespannt wird.

- 1: Processus xiphoideus.
- 2: Nach oben geklappte Bauchdecke
- 3: Zur Seite gelegte Darmschlingen, die sich noch an der Mesenterialwurzel befinden
- 4: Retroperitoneum
- 5: Rechter Leberlappen

Es folgte die Ligierung des Gefäßes an seinem Ursprung aus der Aorta abdominalis. Als nächstes wurde die AMS vorsichtig mittels eines kleinen Schnittes eröffnet und mit einem auf eine Microlance Kanüle (22 G) aufgezogenen Micro-Perfusionsschlauch aus Polyethylen (0,5 mm × 1,0 mm) kanüliert. Nun wurde das Gefäß mit einem Ethibondfaden um die Kanüle festgeknüpft und nachfolgend proximal vom Gefäßstamm abgesetzt. Danach folgte in situ die Spülung des Gefäßbettes mit 15 ml körperwarmer, oxygenierter Krebs-Henseleit-Lösung (KHL; Zusammensetzung s. unten). Anschließend war das zu entnehmende Versuchsgewebe blutleer. Nun erfolgte die scharfe Abtrennung des Mesenteriums vom Darm und dorsal der Mesenterialwurzel.

Abschließend wurden die V. cava inferior und die Aorta abdominalis durchtrennt, wodurch das analgosedierte Versuchstier verstarb.

Es folgten zwei weitere Spülungen mit 15 ml Krebs-Henseleit-Lösung, dabei befand sich das Versuchsgewebe in einem mit warmer Krebs-Henseleit-Lösung gefüllten Reaktionsgefäß. Abbildung 8 zeigt das Gewebe nach dieser Prozedur.

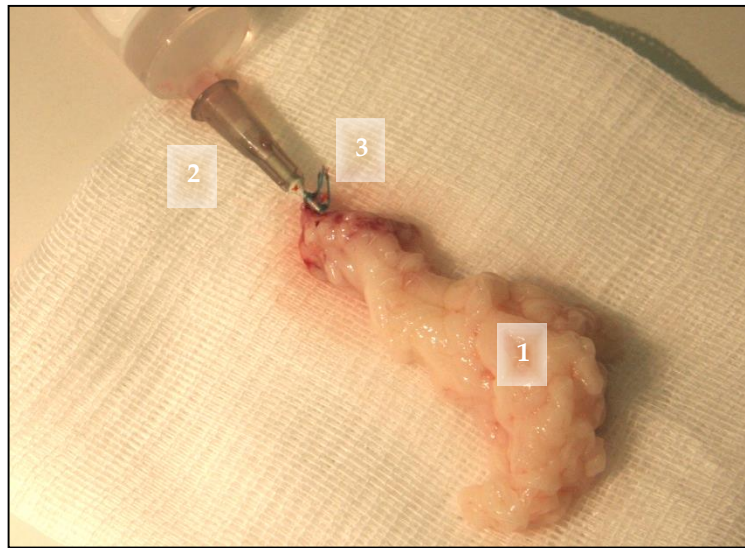


Abbildung 8: Mesenteriales Versuchspräparat

Das präparierte mesenteriale Gefäßbett ist über die kanülierte AMS an einer 22 G Kanüle fixiert, welche dann auf das Tubingsystem innerhalb des Perfusionskreislaufes aufgesteckt werden kann.

1: Mesenteriales Gefäßbett

2: Becton Dickinson 22 G Kanüle

3: Kanülierte und festgeknüpfte AMS

Anschließend wurde die Kanüle und das daran hängende Mesenterialgewebe mit Parafilm locker umwickelt, um einer Austrocknung vorzubeugen. Als letzter Schritt wurde das Gewebe in einem Zylinder (ausgeschnittene 20 ml Spritze) platziert, die Kanüle auf eine Tubingverbindung (T-Stücke, Mikro 2,3-3,5 mm) aufgesetzt und so an die Perfusionspumpe angeschlossen. Das Gewebe wurde in dem Zylinder bei 37 °C aufbewahrt und mit Hilfe einer Pumpe (Ismatec) ständig mit 37 °C warmer und mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) oxygenierter Krebs-Henseleit-Lösung perfundiert und auch von außen manuell damit benetzt. Das Perfusionsvolumen betrug kontinuierlich 4 ml/min. Die aus dem Gewebe austretende Flüssigkeit wurde abgeleitet und verworfen. Die P-23-Db Perfusionsdruck-Messelektrode (Transducer) maß kontinuierlich den Perfusionsdruck und leitete die Messwerte an das Aufzeichnungsgerät (PowerLab 4/20, AD Instruments, Spechbach, Deutschland) weiter. Die Sicherung der Daten und Graphen erfolgte auf dem Laborcomputer.

Unter den beschriebenen Bedingungen bleibt das Mesenterialgewebe bei in-vitro-Perfusionsversuchen vier bis sechs Stunden vital.

Vier Liter Krebs-Henseleit-Lösung enthalten folgende Bestandteile in den angegebenen Konzentrationen [mM] auf vier Liter Aqua destillata:

Substanz	Konzentration [mM]
NaCl	118
KCl	4,7
KH ₂ PO ₄	1,2
MgSO ₄	1,2
CaCl ₂	2,5
NaHCO ₃	25
EDTA	0,026
Glucose	11,0

Tabelle 3: Konzentrationen der Bestandteile der Krebs-Henseleit-Lösung in [mM]

Die Krebs-Henseleit-Lösung wurde während des kompletten Versuchs oxygeniert (Carbogen, 95% O₂; 5% CO₂) und auf Körpertemperatur erwärmt verwendet.

Die Lösung hat einen pH-Wert von 7,4 und wird mit Carbogen, einem Gasgemisch bestehend aus 95% O₂ und 5% CO₂ versetzt, um ein Ausfällen zu verhindern.

Das Perfusionsmodell an Ratten bietet folgende Vorteile:

Über die AMS werden bei der Ratte ca. 90% des mesenterialen Gefäßbettes versorgt. Des Weiteren erreichen eingesetzte Versuchsreagenzien nur einmal das Gefäßsystem und werden dann ausgespült, da es keine Rezirkulationsmöglichkeiten gibt. Nachdem die anatomischen Strukturen nicht verändert werden, erreicht man mit der modifizierten in-vitro Perfusion alle Gefäße im mesenterialen Gefäßbett der Ratte - angefangen von den großen Arterien vom muskulären Typ bis hin zu den Arteriolen - und kann somit annähernd in-vivo Verhältnisse erzielen.

Abbildung 9 zeigt den Versuchsaufbau und die verwendete Perfusionsanlage.

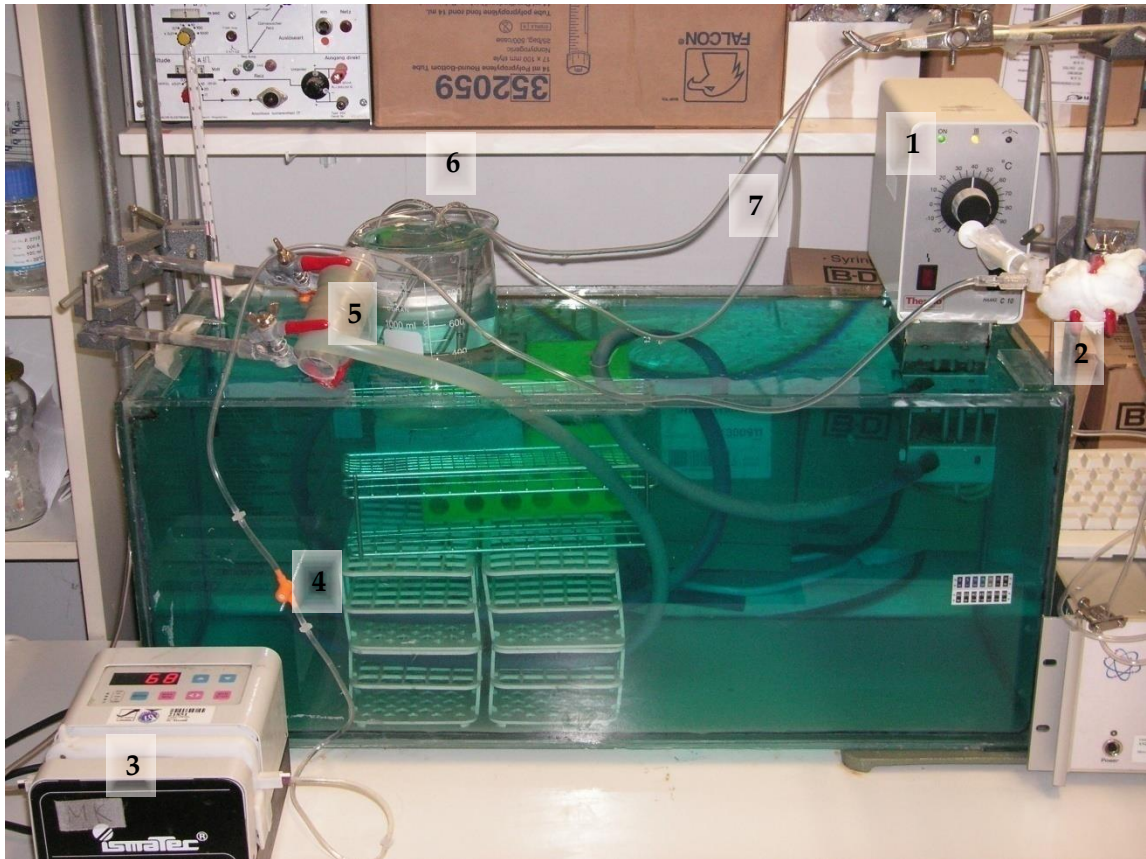


Abbildung 9: Perfusionsanlage

Das Wasserbad und alle verwendeten Lösungen wurden auf 37 °C erwärmt und mit Carbogen (95% O₂; 5% CO₂) angereichert. Die Ismatec-Pumpe sorgte für eine konstante Flussrate von 4 ml/min. Veränderungen der Drücke im Gefäßbett wurden vom Transducer gemessen und vom PowerLab 4/20 aufgezeichnet. (Eigenbau Prof. Dr. med. R. Wiest)

- 1: Thermostat
- 2: Transducer
- 3: Ismatec – Pumpe
- 4: Perfusionserschlauchsystem mit orangem Einspritzventil für die ET-1-Boli
- 5: Perfusionskammer mit dem Gefäßbett
- 6: Behälter mit Perfusionslösung (KHL/ KHL + NPY)
- 7: Carbogen – Schläuche

2.2.4 Versuchsprotokoll

Der Perfusionsversuch begann mit einer Äquilibrationsphase von ca. 30 Minuten, in der das Gefäßbett mit Krebs-Henseleit-Lösung bei einer Flussgeschwindigkeit von 4 ml/min durchspült wurde. Daran schloss sich der erste Versuchszyklus an, in

dem in aufsteigender Konzentration Endothelin-1-Verdünnungen in Form von zwei-Milliliter-Boli (1 ml/ 2 sec.) in das Perfusionssystem gespritzt werden.

Vorversuche der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Reiner Wiest konnten bereits zeigen, dass die alleinige Volumengabe eines zwei-Milliliter-Bolus Kochsalzlösung keine relevante Änderung der Druckkurve auslösen kann.

Tabelle 4 weist die Konzentration der verabreichten Boli in molarer Masse [M] und Gramm [g] aus.

Endothelin-1-Konzentration [M]	Endothelin-1-Konzentration [g]
5×10^{-9}	1×10^{-8}
1×10^{-8}	2×10^{-8}
5×10^{-8}	1×10^{-7}
1×10^{-7}	2×10^{-7}

Tabelle 4: Konzentrationen von Endothelin-1 in molarer Masse [M] und Gramm [g]

Die Flussgeschwindigkeit und die Krebs-Henseleit-Lösung als Spülflüssigkeit werden beibehalten. Der darauffolgende Bolus mit der nächsthöheren Konzentration der Endothelin-1-Verdünnungsreihe wurde erst gegeben, wenn die Druckwerte die Basislinie wieder erreicht hatten. Zwischen dem ersten und dem zweiten Zyklus befand sich eine ca. dreißigminütige Auswaschphase.

Der Krebs-Henseleit-Lösung, die fortlaufend über den gesamten Versuch beständig mit 4ml/min Flussgeschwindigkeit durch das Gewebe gepumpt wurde, wurde nun NPY zugegeben. Das Neuropeptid lag dann in einer 50 nm Verdünnung in der KHL vor und lief während der zweiten Versuchshälfte (Zweiter Zyklus) stetig durch das Gewebe. Diese Dosierung des NPY wurde in zahlreichen Untersuchungen der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. R. Wiest evaluiert und verursachte in dieser niedrigen Konzentration per se keine Vasokonstriktion. Nach zehnminütigem Vorlauf zur Inkubation mit NPY startete der zweite Zyklus wieder mit dem ersten

Bolus der schwächsten Konzentration der ET-1 Verdünnungsreihe. Es wurde erneut abgewartet bis die Basislinie der Druckkurve erreicht wurde und dann der nächste Bolus der nächsthöheren Konzentration verabreicht, usw. Die Aufzeichnung und somit der Versuch endete, wenn der letzte Peak nach Zugabe des Bolus mit der stärksten ET-1 Verdünnung erreicht war. Das Perfusat wurde verworfen. Abbildung 10 zeigt den schematisierten Versuchsablauf.

Versuchsbeginn

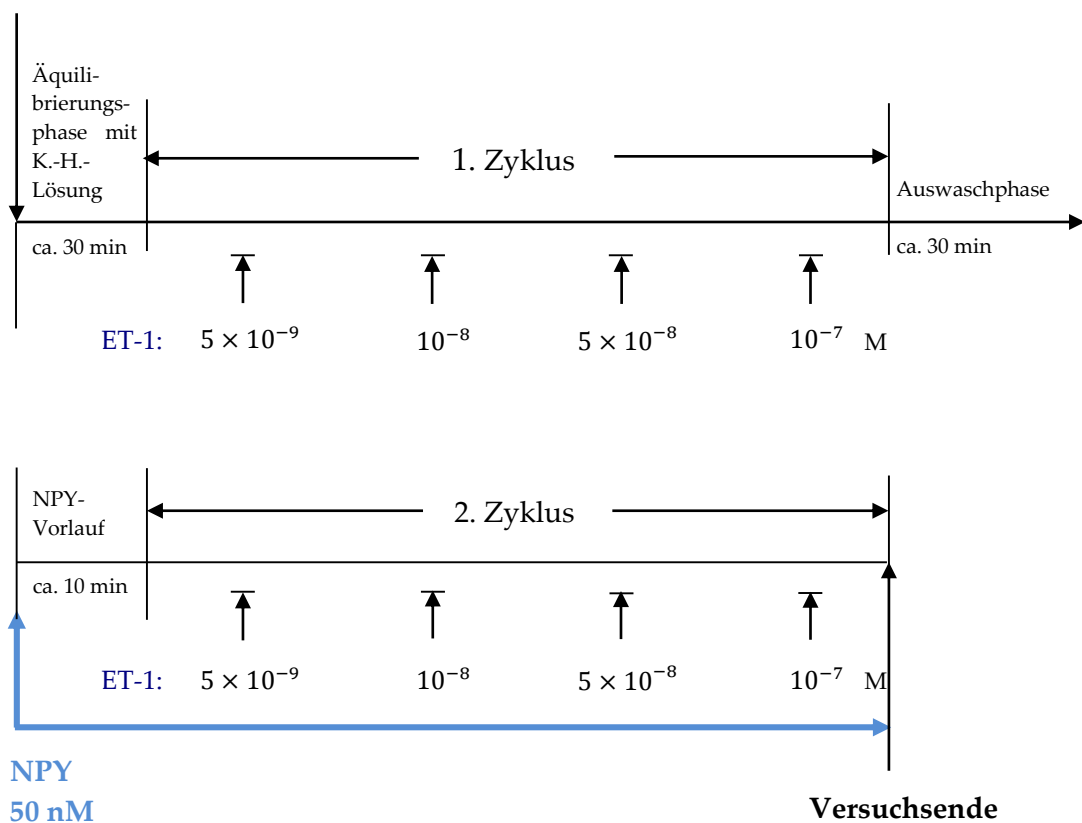


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes

Mittels der durchgeführten Experimente sollte bewiesen werden, dass NPY eine Endothelin-1-vermittelte Vasokonstriktion im mesenterialen Gefäßbett der Ratte bei prähepatischer portaler Hypertension verstärken kann.

2.2.5 Kritik der Methodik

Das verwendete Modell der prähepatischen portalen Hypertension ahmt in vielerlei Hinsicht die wichtigsten hämodynamischen Eigenschaften der portalen Hypertonie nach. Eine kleine Einschränkung des Versuchsmodells bildet die Tatsache, dass es nicht genau den Schweregrad und die Komplexität der verschiedenen Mechanismen, die zur Vasodilatation und dem hyperdynamen Zirkulationssyndrom innerhalb des Krankheitsbildes der Leberzirrhose führen, abbilden kann (Iwakiri and Groszmann 2006).

3 Ergebnisteil

Es stellte sich die Frage, wie potent das Neuropeptid Y die Wirkung eines Vasokonstriktors (im Fall dieser Studie: Endothelin-1) in Abhängigkeit einer vorliegenden portalen Hypertonie verstärken kann. Untersucht wurde diese Fragestellung zum einen am Gefäßbett von gesunden, kontrollierten Ratten (Sham-Ratten) und zum anderen am Gefäßbett von PVL-Ratten. Durch die operative Gefäßverengung der V. portae und die dadurch induzierte Entstehung eines HZS wurde das Gefäßbett der Ratten in vivo exzessiv stimuliert.

Zu Beginn der Perfusionsversuche bestanden somit schon unterschiedliche Ruhedrucke in beiden Versuchsgruppen (s.o.).

3.1 Statistik

Die Ergebnisse werden ab Mittelwert \pm SEM angegeben. Für die Auswertung wurde ein gepaarter bzw. ungepaarter T-Test verwendet. Das Signifikanzniveau betrug $p < 0,05$.

In die Statistik gingen die Messwerte von fünf PVL-Tieren und vier Kontrolltieren ein. Es wurde darauf geachtet, dass sich die Versuchsgruppen in Körpergewicht und Alter entsprechen (Sham-Ratten: ca. $314,25 \text{ g} \pm 46,75 \text{ g}$ vs. PVL-Ratten: $323,8 \text{ g} \pm 16,42 \text{ g}$). Das Milzgewicht der PVL-Ratten war signifikant höher als das der Sham-Ratten (Milzgewicht Sham-Ratten: $0,67 \text{ g} \pm 0,14 \text{ g}$ vs. PVL-Ratten $1,09 \text{ g} \pm 0,25 \text{ g}$) wie in Abbildung 11 dargestellt ist.

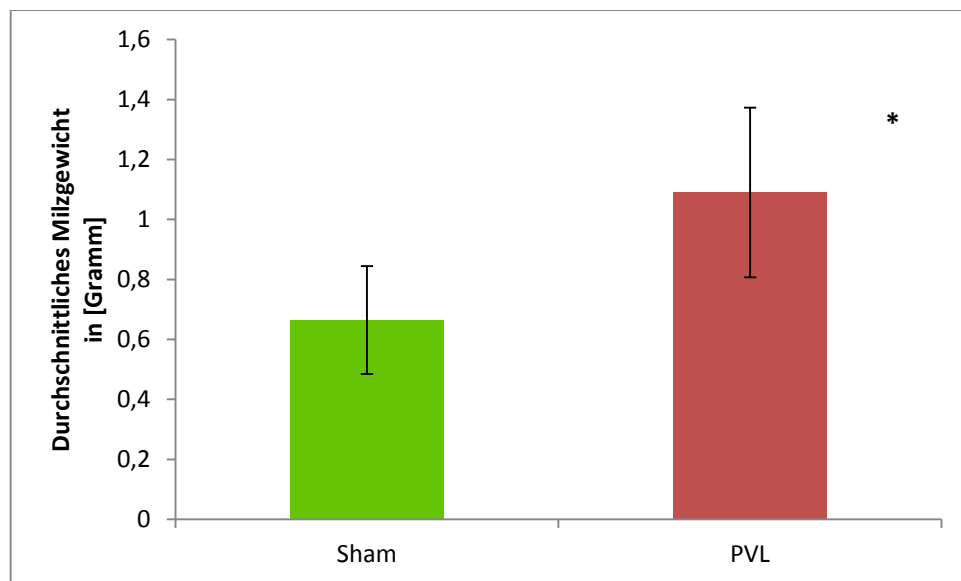


Abbildung 11: Vergleich des Milzgewichtes von PVL- und Sham-Ratten

„*“: Das Milzgewicht in [Gramm] der PVL-Ratten ist signifikant größer als das der Sham-Ratten ($p < 0,05$).

Der zu Beginn der Versuche herrschende Basaldruckwert war bei den Sham-Ratten signifikant höher als bei den PVL-Ratten (Basalwert Sham-Ratten: $14,52 \text{ mmHg} \pm 1,67 \text{ mmHg}$ vs. PVL-Ratten $10,61 \text{ mmHg} \pm 1,6 \text{ mmHg}$; $p < 0,05$). Siehe hierzu Abbildung 12.

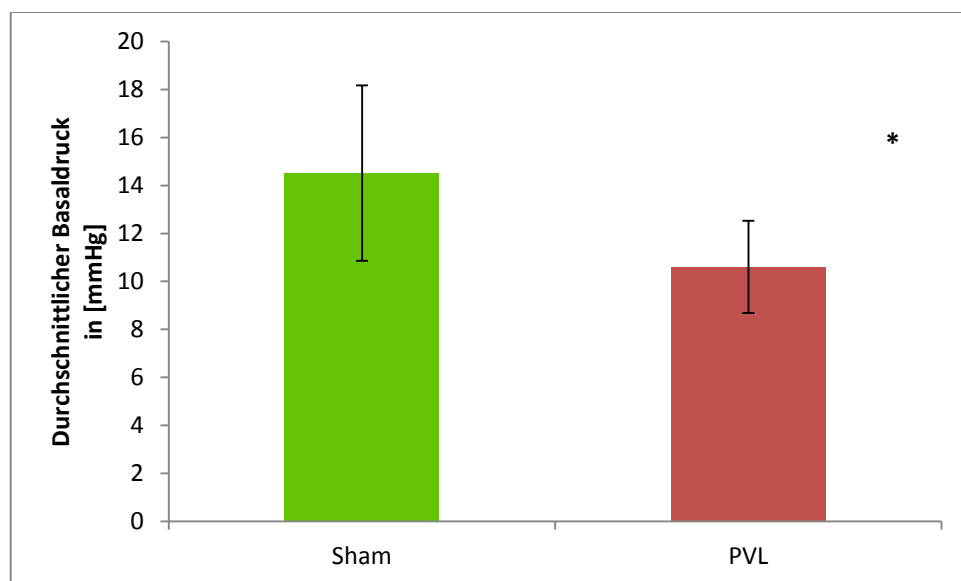


Abbildung 12: Vergleich des Basaldruckes von PVL- und Sham-Ratten

„*“: Der Basaldruck in [mmHg] von Sham-Ratten ist signifikant höher als der der PVL-Ratten ($p < 0,05$).

3.2 Potenzierende Wirkung des NPY auf die Endothelin-1-vermittelte Vasokonstriktion

In den nachfolgenden Abbildungen 13 und 14 wird beispielhaft ein kompletter Versuchsablauf von beiden Versuchsgruppen mithilfe des Programms PowerLab 4/20 dargestellt. Aufgetragen wird der Druck gegen die Zeit. Wie oben im Versuchsprotokoll beschrieben, wurden zwei Versuchszyklen durchgeführt. In Abbildung 13 sieht man die Perfusionsdruckkurve einer gesunden, kontrollierten und normotonen Sham-Ratte. Im ersten Zyklus werden bei der höchsten Konzentration nahezu die gleichen Druckwerte erreicht wie im zweiten Zyklus mit NPY. NPY hat also in der von uns gewählten Konzentration per se keinen drucksteigernden Effekt auf den maximal erzielbaren Perfusionsdruck.

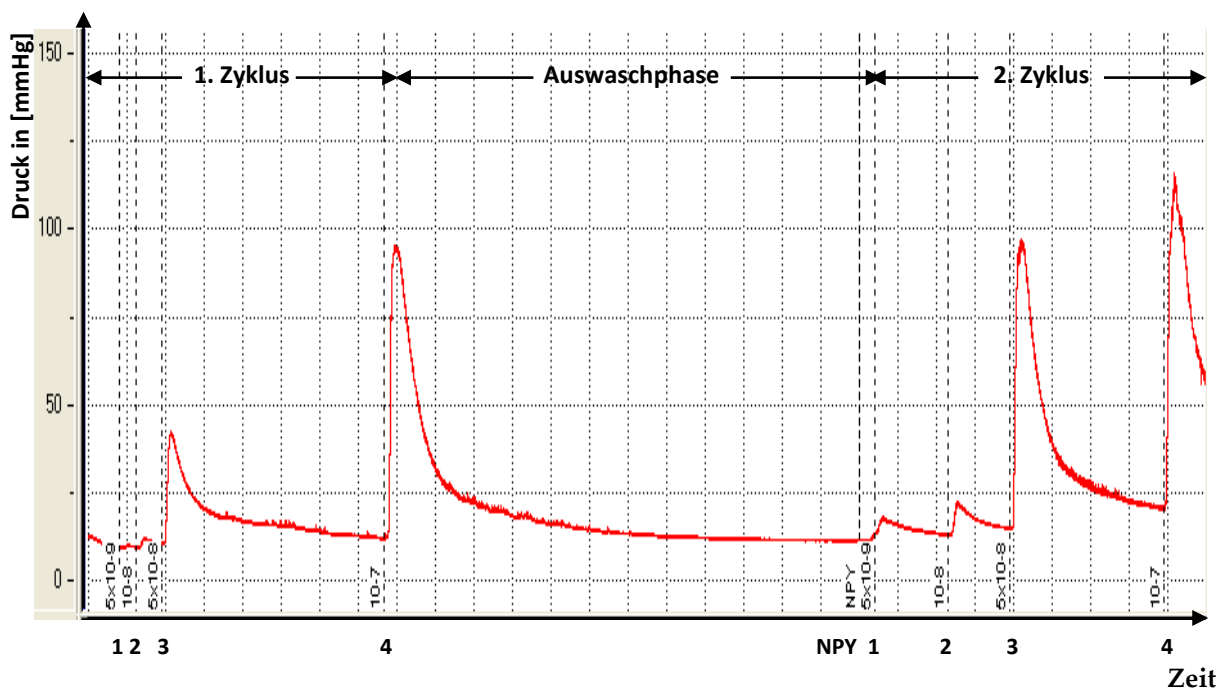


Abbildung 13: In vitro Perfusionskurve des mesenterialen Gefäßbettes einer Sham-Ratte ohne und mit NPY-Inkubation

Druckkurve einer Perfusion am Beispiel einer gesunden Kontrollratte (Sham-Ratte). Darstellung mit PowerLab 4/20. Aufgetragen wird der Druck in [mmHg] gegen die Zeit.

„1“: Erster Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-9} M)

„2“: Zweiter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-8} M)

„3“: Dritter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-8} M)

„4“: Vierter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-7} M)

„NPY“: NPY-Zugabe zum Perfusat. Daraus ergibt sich eine NPY-Konzentration von 50 nm.

Abbildung 14 zeigt beispielhaft den Versuchsablauf mit einer PVL-Ratte. Der basale Ruhedruck liegt etwas unter dem der Kontroll-Tiere und auch die Kontraktilität auf die Gabe des ET-1 verschiedener Konzentrationen bleibt im ersten Versuchszyklus deutlich hinter den Druckwerten der normotonen, gesunden Tiere zurück. Im zweiten Zyklus gelingt es, über das zugegebene NPY die kontraktile Wirkung des ET-1 maßgeblich zu steigern und zwar annähernd auf das Niveau einer Sham-Ratte, wobei NPY per se nicht gefäßverengend wirkt.

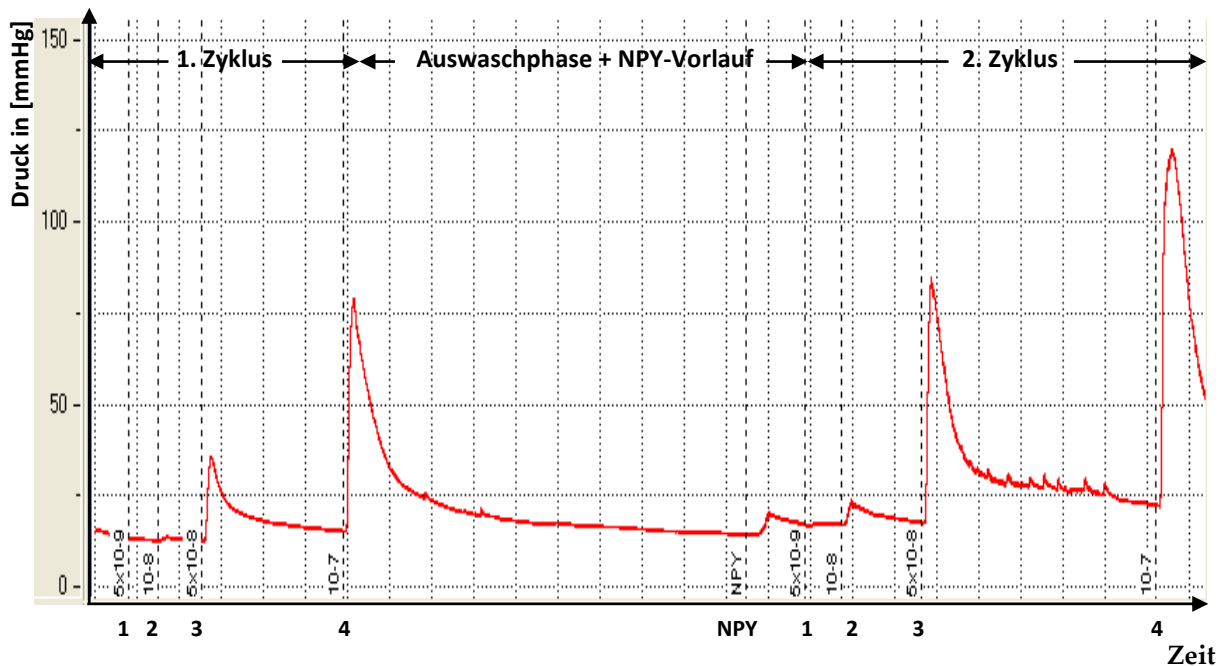


Abbildung 14: In vitro Perfusionskurve des mesenterialen Gefäßbettes einer PVL-Ratte ohne und mit NPY-Inkubation

Druckkurve einer Perfusion am Beispiel einer PVL-Ratte. Darstellung mit PowerLab 4/20. Aufgetragen wird der Druck in [mmHg] gegen die Zeit.

„1“: Erster Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-9} M)

„2“: Zweiter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-8} M)

„3“: Dritter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-8} M)

„4“: Vierter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-7} M)

„NPY“: NPY-Zugabe zum Perfusat. Daraus ergibt sich eine NPY-Konzentration von 50 nm.

Abbildung 15 verdeutlicht graphisch wie stark sich die maximalen Druckwerte, die nach einem ET-1-Bolus erreicht werden, zwischen den beiden Versuchsgruppen

unterscheiden. Die maximale Kontraktion des mesenterialen Gefäßbettes der PVL-Tiere liegt stets weit unterhalb derer gesunder Sham-Ratten. Eben beschriebene Situation entspricht dem ersten Versuchszyklus "Ohne NPY". Die in beiden Gruppen gemessenen Druckwerte unterscheiden sich signifikant ($p < 0,001$).

Die maximal gemessenen Druckwerte des zweiten Versuchszyklus "Mit NPY" sind ebenfalls in Abbildung 15 dargestellt. Die maximal gemessenen Druckwerte der PVL-Ratten (rote Dreiecke mit blauer Verbindungslinie) erreichen hier nahezu die Druckwerte der gesunden Sham-Ratten (grüne Rauten mit gelber Verbindungslinie). Der Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen ist nicht mehr signifikant.

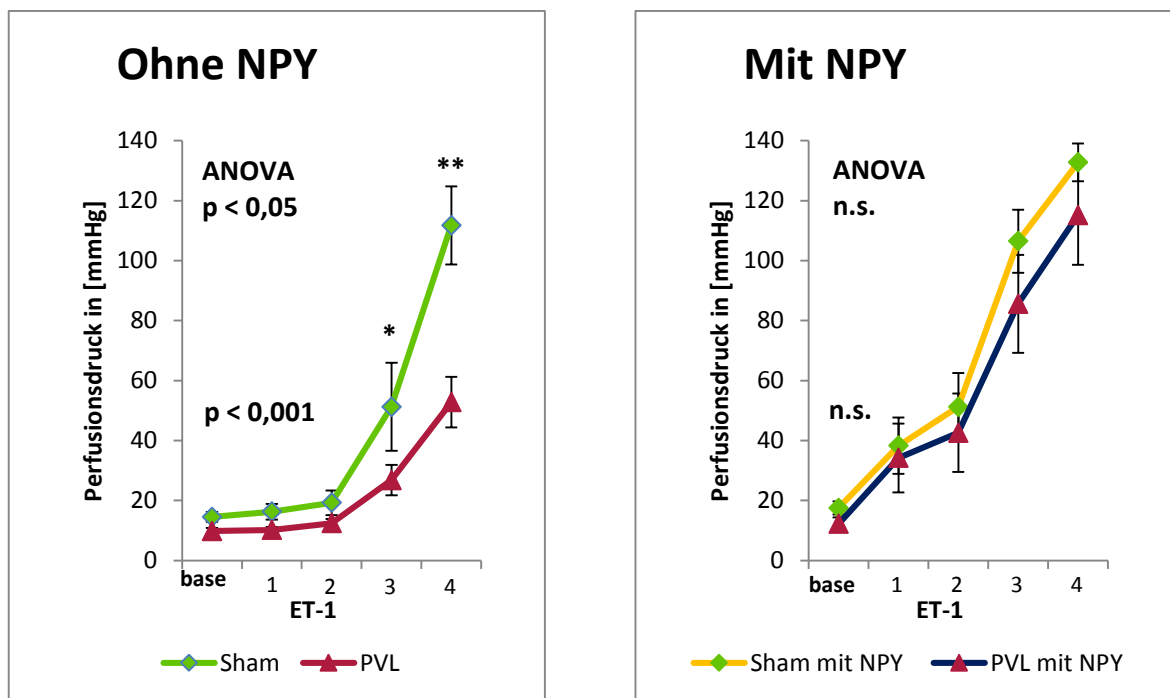


Abbildung 15: Dosis-Wirkungs-Kurve von Endothelin-1

Dosis-Wirkungs-Kurve von Endothelin-1. Links ohne Zugabe von NPY (diese Werte entstammen dem 1. Versuchszyklus). Rechts unter Zugabe von NPY (50 nm) (diese Werte entstammen dem 2. Versuchszyklus).

„base“: Ruhedruck

„1“: Erster Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-9} M)

„2“: Zweiter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-8} M)

„3“: Dritter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-8} M)

„4“: Vierter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-7} M)

„*“: Der Unterschied zwischen dem maximalen Druckwert (bei dieser ET-1-Konzentration) von PVL-Ratten und Sham-Ratten ist signifikant ($p < 0,05$).

„**“: Der Unterschied zwischen dem maximalen Druckwert (bei dieser ET-1-Konzentration) von PVL-Ratten und Sham-Ratten ist sehr signifikant ($p < 0,001$).

„n.s.“: Unterschied zwischen maximalen Druckwerten von PVL-Ratten und Sham-Ratten ist nicht signifikant.

Abbildung 16 zeigt die absolute Änderung des Perfusionsdrucks in [mmHg] durch NPY indem sie die reaktive Kontraktion mit den daraus resultierenden Druckwerten aus dem ersten und zweiten Zyklus vergleicht. Anders ausgedrückt wird die Differenz zwischen den beiden Versuchszyklen (zuerst ohne, dann mit NPY), die durch identische Endothelin-1-Boli ausgelöst wird, dargestellt.

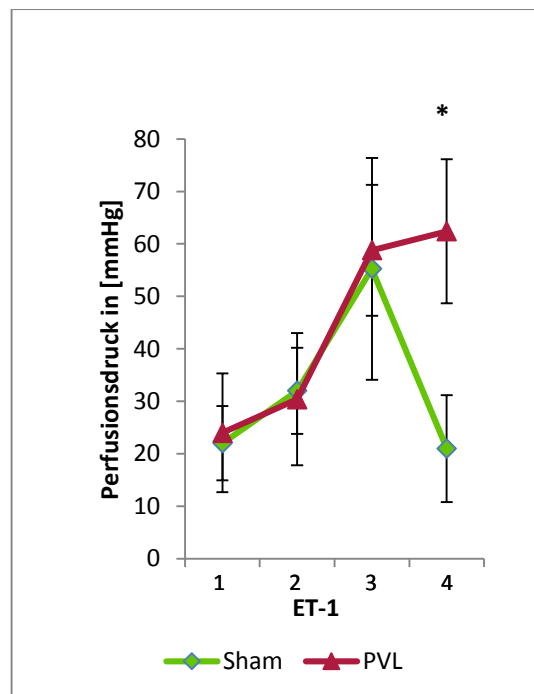


Abbildung 16: Veränderungen der vaskulären Reaktivität absolut

Absolute Änderung des Perfusionsdruckes von PVL- und Sham-Ratten in [mmHg].

„base“: Ruhedruck

„1“: Erster Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-9} M)

„2“: Zweiter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-8} M)

„3“: Dritter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-8} M)

„4“: Vierter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-7} M)

„*“: $p < 0,05$: PVL vs. Sham

Man erkennt, dass die maximal erreichten Druckwerte der PVL-Tiere mit steigender Endothelin-1-Konzentration weiter zunehmen, wogegen bei den Sham-Tieren keine wesentliche weitere Drucksteigerung verursacht wird.

Eben beschriebener Sachverhalt wird nochmal in Abbildung 17 dargestellt; hier als prozentuale Änderung des Perfusionsdruckes durch NPY im Vergleich zum ersten Perfusionszyklus. Bei den PVL-Ratten kann durch NPY besonders in den niedrigeren Endothelin-1-Konzentrationen eine hohe Drucksteigerung durch NPY erreicht werden. Bei den Sham-Ratten sind die prozentualen Druckänderungen mit NPY deutlich geringer.

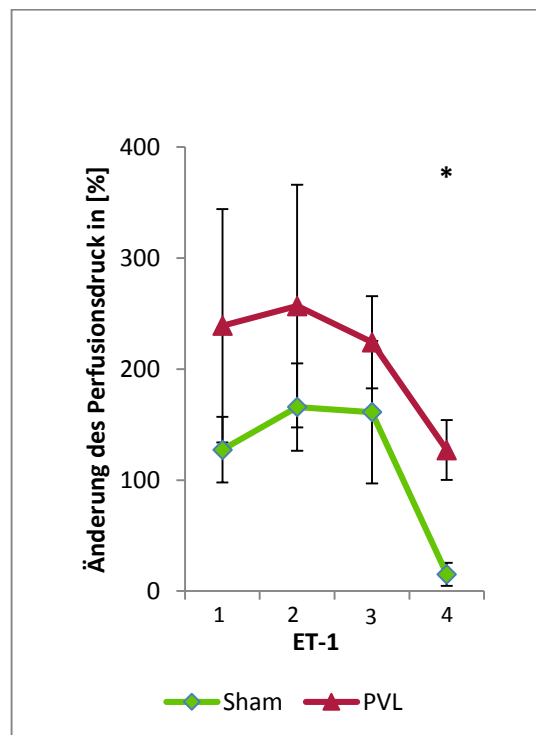


Abbildung 17: Veränderungen der vaskulären Reaktivität prozentual

Prozentuale Änderung des Perfusionsdruckes von PVL- und Sham-Ratten in [%].

„base“: Ruhedruck

„1“: Erster Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-9} M)

„2“: Zweiter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-8} M)

„3“: Dritter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-8} M)

„4“: Vierter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-7} M)

„*“: $p < 0,05$: PVL vs. Sham

3.3 EC₅₀-Werte

Der EC₅₀ - Wert stellt in der Pharmakologie diejenige Konzentration dar, bei der ein halbmaximaler Effekt beobachtet werden kann. Emax ist die maximale Effizienz eines Agens auf ein Zielorgan (Alvan et al. 1999).

Bezogen auf diese Arbeit stellt der EC_{50} -Wert also den Wert dar, bei dem der halbmaximale Effekt des Endothelin-1 in den verschiedenen Konzentrationen (5×10^{-9} M, 10^{-8} M, 5×10^{-8} M, 10^{-7} M) mit und ohne den Einfluss von NPY auf das mesenteriale Gefäßbett der Ratte bei prähepatischer portaler Hypertension erreicht wird. In Abbildung 18 ist zu erkennen, dass es unter der Einwirkung von NPY, sowohl bei den Kontrolltieren, als auch bei den PVL-Tieren zu einer signifikanten Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve des Endothelin-1 kommt. Dies spiegelt eine erhöhte Gefäßsensitivität gegenüber Endothelin-1 wider (EC_{50} : PVL $3,4 \times 10^{-9} \pm 10^{-9}$ vs. $4,2 \times 10^{-8} \pm 7 \times 10^{-10}$ M und Sham $1,3 \times 10^{-7} \pm 5 \times 10^{-8}$ vs. $5,4 \times 10^{-8} \pm 4 \times 10^{-9}$ M) Damit erhöht NPY bei beiden Gruppen die vaskuläre Sensitivität des mesenterialen Gefäßbettes gegenüber Endothelin-1.

Der klassische Zugang, um eine pharmakologische Antwort auf ein Agens zu beschreiben, ist seine Dosis-Wirkungskurve zu analysieren. Ein mögliches Modell ist das der maximalen Effizienz E_{max} . Dieses Modell lässt sich auf alle Agenzien anwenden und ist besonders nützlich für Stoffe, die einer Dosis-Wirkungs-Kurve folgen. Einflussfaktoren auf die Effizienz der Konzentration eines Stoffes können sowohl die Toleranzentwicklung eines Zielorgans auf den Stoff, als auch die Gegenregulation, die durch den Stoff verursacht werden kann, sein (Alvan et al. 1999). In der PVL-Gruppe ist die maximale Effizienz (E_{max}) des Endothelin-1 durch das NPY im Vergleich zur Kontroll-Gruppe signifikant größer bei einem p-Wert von $< 0,05$ (s. Abbildung 18). Aus diesen Zusammenhängen lässt sich eine spezifische Wirksamkeit des NPY, nämlich eine Steigerung der maximalen Gefäßkontraktilität speziell bei Tieren mit portalem Hochdruck, schließen.

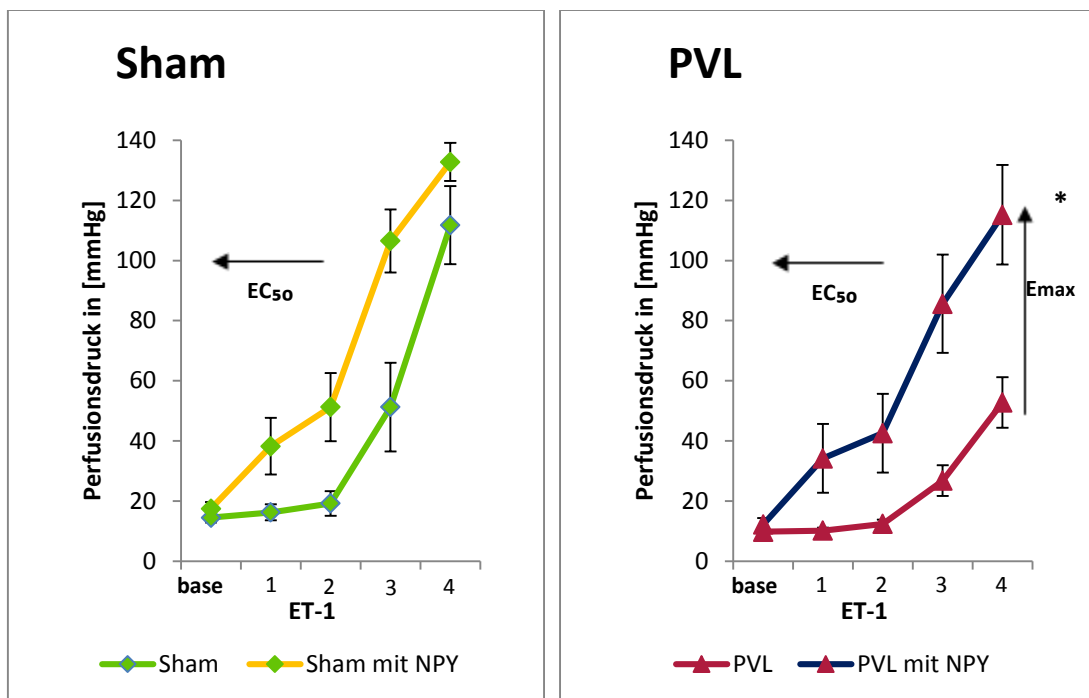


Abbildung 18: Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve durch NPY gegenüber Endothelin-1

Durch NPY lässt sich sowohl bei den Sham-Ratten als auch bei den PVL-Ratten eine deutliche Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurven bei jeder der gegebenen ET-1-Verdünnungen erkennen, d.h., dass der halbmaximale Effekt durch ET-1 (bei jeder Konzentration) mit NPY deutlich eher erreicht wird. NPY bewirkt somit einen steileren Anstieg der Dosis-Wirkungs-Kurve. Emax, die maximale Antwort die durch ET-1 erzielt werden kann, ist bei den PVL-Ratten signifikant größer als bei den Sham-Ratten ($p < 0,05$).

„base“: Ruhedruck

„1“: Erster Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-9} M)

„2“: Zweiter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-8} M)

„3“: Dritter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 5×10^{-8} M)

„4“: Vierter Bolus Endothelin-1 (Konzentration: 10^{-7} M)

„EC₅₀“: Mittlere effektive Konzentration

„Emax“: Maximale Antwort, die durch die Kombination von NPY und ET-1 ausgelöst werden kann

„*“: $p < 0,05$: PVL vs. Sham

4 Diskussion

Die portale Hypertension ist die wichtigste Komplikation der Leberzirrhose und ist direkt oder indirekt für die meisten der Komplikationen der Leberzirrhose (mit-) verantwortlich (Aszites, Varizenblutung, hepatorenales, -pulmonales Syndrom etc.). Laut Iwakiri und Groszmann lässt sich das hyperdynamische Zirkulationssyndrom am treffendsten als Syndrom der zunehmenden systemischen Vasodilatation beschreiben, da diese den entscheidenden Faktor für die Entstehung der vaskulären Veränderungen darstellt und schließlich zur Multiorganbeteiligung führt. Es stellt die Umwandlung eines durch Leberzirrhose veränderten Organismus dar (Iwakiri and Groszmann 2006).

Die Stickstoffmonoxid-Überproduktion spielt eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung des hyperdynamischen Zirkulationssyndroms, weil es maßgeblich zur arteriellen Vasodilatation beiträgt und die vaskuläre Reaktivität auf Vasokonstriktoren vermindert. Die initiale Ursache der Überproduktion des Stickstoffmonoxid ist weiter unklar, allerdings sprechen viele Ergebnisse dafür, dass hierfür die gesteigerte Aktivität der Vasodilatoren, die Rezeptor-Downregulation, Veränderungen bei der kontraktilen Signaltransduktion und das vaskuläre Remodelling eine wichtige Rolle spielen. Es scheint allerdings unwahrscheinlich, dass diese ausschließlich sekundär auf die hyperdynamische Zirkulation oder die Scherkräfte, welche durch den Blutfluss auf das Endothel der Arterien wirkt zurückzuführen ist. (Wiest and Groszmann 1999; Hadoke and Hayes 1997)

Die vaskuläre Hyporeaktivität auf verschiedene Vasokonstriktoren und Vasodilatoren wurde in vielen verschiedenen Studien bestätigt (Polio et al. 1993; Vorobioff et al. 1983; Bomzon and Blendis 1987; Sieber and Groszmann 1992b;

Castro et al. 1993; Sogni et al. 1996; Huang et al. 1996; Colle et al. 2004). Die Divergenz erschwert Vergleiche zwischen den einzelnen Studien. Für unsere Arbeit im Vordergrund steht die Hyporeaktivität des mesenterialen Gefäßbetts auf den Vasokonstriktor Endothelin-1. Hartleb et al wiesen diese im Sinne einer verminderten Druckantwort gegenüber Endothelin-1 bei zirrhotischen Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren nach. Durch L-NAME (L-Nitro-Arginin Methylester) einen Inhibitor der Stickstoffmonoxid-Biosynthese kommt es zu einer Linksverschiebung der Dosis-Wirkung-Kurve des Endothelin-1 bei zirrhotischen Ratten, also zu einer Abnahme der mittleren effektiven Dosis ED_{50} (entspricht der mittleren effektiven Konzentration EC_{50}) und zu einer signifikanten Erhöhung der maximalen Druckantwort durch Endothelin-1 (R_{max}) (Hartleb et al. 1994).

Endothelin-1, das 1988 von japanischen Wissenschaftlern, Yanagisawa et al. entdeckt wurde, gilt als der stärkste Vasokonstriktor in biologischen Systemen (Yanagisawa et al. 1988). Das Peptid setzt sich aus 21 Aminosäuren zusammen und ist innerhalb der verschiedenen Arten stark konserviert (Janes et al. 1994). Es induziert seinen vasokonstriktiven Effekt über den ET_A -Rezeptor in der arteriellen glatten Gefäßmuskelzelle (D'Orleans-Juste et al. 1993; Rizzoni et al. 1997).

NPY ist ein Polypeptid, das aus 36 Aminosäuren besteht und 1980 erstmals durch K. Tatemoto et al. beschrieben wurde (Tatemoto et al. 1982). Es bindet im mesenterialen Gefäßbett hauptsächlich postsynaptisch an den Y_1 -Rezeptor (Wahlestedt et al. 1990; McAuley and Westfall 1992; Fuhlendorff et al. 1990; Wiest et al. 2006; Grundemar and Hogestatt 1992). Durch NPY allein kommt es an mesenterialen Gefäßen nicht zur Vasokonstriktion (Andriantsitohaina and Stoclet 1988).

In unserer Versuchsreihe wurde die prähepatische portale Hypertension operativ durch die partielle Ligierung der V. portae induziert. Dieses Modell zeichnet sich durch seine hohe Reproduzierbarkeit aus und hat sich vielfach bewährt (Chan et al. 2001; Chojkier and Groszmann 1981; Vorobioff et al. 1983; Chan et al. 2001; Abraldes

et al. 2006; Wiest et al. 2006; Wiest et al. 2007). D. D. McGregor entwickelte das angewandte in vitro Perfusionsmodell, mit dem annähernd in vivo-Bedingungen erreicht werden können (MCGREGOR 1965; Wiest et al. 1999a; Perez-Vizcaino et al. 1995).

Bereits belegt ist, dass NPY in mesenterialen Arteriolen 3. Grades der Ratte, die von α_1 -Adrenozeptor-Agonisten induzierte Vasokonstriktion potenziert. Außerdem verursacht NPY in sehr geringer Konzentration (100 nM) eine Linksverschiebung der Dosis – Wirkungs – Kurven von Noradrenalin und Phenylephrine. (Andriantsitohaina and Stoclet 1990) NPY hat bis zu mikromolaren Dosen keinen direkten kontraktilen Effekt (Wiest et al. 2006; Grundemar et al. 1992).

Frühere Studien zeigten bereits, dass NPY (10 nM) die Endothelin-1-induzierte Vasokonstriktion in Arterien von Ratten mit kongestivem Herzversagen, aber nicht von Kontroll-operierten Ratten, verstärkt (Bergdahl et al. 1998).

Wiest et al. belegten mit ihren Ergebnissen, dass NPY Dosis-abhängig und Endothel-unabhängig die Präkonstriktion der AMS durch den α_1 -adrenergen Vasokonstriktor Methoxamin verstärkt. Dabei ist die Verstärkung umso wirksamer, je höher die adrenerge Vorstimulation ist und in PVL-Ratten ausgeprägter als in der Kontrollgruppe der Sham-operierten Ratten, besonders bei hohen Methoxamin-Konzentrationen. NPY verstärkt die Gefäßkontraktilität nur in den PVL-Ratten und gleicht damit die bestehende Hyporeaktivität aus. NPY stellt einen überragenden Vasokonstriktor dar, der der arteriellen Vasodilatation bei portaler Hypertension entgegenwirken kann. Erstmals bestätigte diese Arbeit, dass NPY als vasokonstriktiver Mediator bei portaler Hypertension eine größere prozentuale Wirkung zeigt, als beim gesunden Individuum. Daraus erwuchs die Vermutung, die mesenteriale sympathische Hyperreaktivität, welche nachweislich bei PVL-Ratten vorliegt, verstarke den Effekt von NPY. (Wiest et al. 2006)

Moleda et al. konnten beweisen, dass NPY effektiv der vaskulären Hyporeaktivität gegenüber adrenerger Stimulation und der NO-vermittelten Vasorelaxation, welche zur arteriellen Vasodilatation führt, entgegenwirkt. Es vermindert die portale Hypertonie und verbessert das hyperdynamische Zirkulationssyndrom bei zirrhotischen Ratten mit portaler Hypertension. Zum einen steigert NPY merklich die vaskuläre Kontraktilität bei Zirrhose-Ratten durch die vermehrte Expression und Aktivität der Rhodopsin-Kinase, die der vaskulären Hyporeaktivität entgegenwirkt. Zweitens inhibiert NPY die eNOS-, iNOS- und nNOS- induzierte Stickstoffmonoxid Produktion und damit den vasodilatierenden Effekt auf die mesenterialen Arterien. Auch in dieser Studie sind die Effekte bei den Zirrhose-Ratten ausgeprägter, als bei den Kontroll-Ratten. (Moleda et al. 2011)

Wiest et al. zeigten 2008 dass Patienten mit Leberzirrhose erhöhte NPY-Konzentrationen im Plasma haben. Dies könnte darauf hindeuten, dass es einen Kompensationsmechanismus gibt, der der arteriellen Vasodilatation, durch erhöhte Freisetzung von NPY und damit erhöhter Wirksamkeit der endogenen Katecholamine in der mesenterialen Zirkulation entgegenwirkt. Der NPY-Plasmaspiegel war bereits bei Patienten mit einer Leberzirrhose im Stadium Child A erhöht und stieg bei Patienten im Stadium B nicht weiter an, was für einen Ceiling-Effekt der NPY-Ausschüttung sprechen könnte. (Wiest et al. 2008)

Abgesehen davon scheint NPY neben den eben beschriebenen positiven Effekten die Angiogenese anzuregen, wie es in der Vergangenheit für Herz, Gehirn und Muskel belegt wurde. Dies kann die portale Hyperension aufgrund des gesteigerten portalen Einstroms verschlimmern (Lee et al. 2003; Wang et al. 2010; Robich et al. 2010). Fernandez et al. konnten zeigen, dass die mesenteriale Angiogenese maßgeblich zur Entwicklung der hyperdynamischen Zirkulation beiträgt und hauptsächlich durch VEGF induziert wird. Weiterhin wird angenommen, dass NPY die Produktion von VEGF hochregelt und, so scheint es, einen Schlüsselfaktor für die Induktionskaskade der Angiogenese darstellt (Lee et al. 2003).

Unter in vivo Bedingungen reduziert exogen zugeführtes NPY den portalvenösen Einstrom nur der zirrhotischen Ratten und verbessert die portale Hypertension. Zusätzlich verstärkt es hier nicht den hepatoportalen Gefäßwiderstand, was wiederum gegen einen nachteiligen intrahepatischen Effekt des NPY spricht. In vitro Experimente der Arbeitsgruppe Wiest zeigten Endothel-unabhängig den nützlichen Effekt von NPY bei zirrhotischen Ratten, welcher zu einer Verbesserung der Gefäßkontraktilität führt und bei der Kontrollgruppe nicht beobachtet wurde. (Moleda et al. 2011)

Moleda et al. belegten auch, dass die intravenöse Gabe von NPY sowohl die portale Hypertension reduziert, als auch das HZS bei zirrhotischen Ratten mit ausgeprägter portaler Hypertension verbessert. Dieser Effekt wird der verbesserten arteriellen Gefäßkontraktilität zugeschrieben. NPY steigert die Rho-Kinase Aktivität in der mesenterialen arteriellen Gefäßwand und hebt die NO-Überproduktion in den mesenterialen Arterien auf. (Moleda et al. 2011)

Dietrich et al. beschäftigten sich mit der Dysregulation der Freisetzung und Wirkung von sympathischen Neurotransmittern bei zirrhotischen Ratten und vor allem dem Einfluss von exogen zugeführten NPY. Sie konnten zeigen, dass der Druck der durch mesenteriale perivaskuläre Nervenstimulation induziert wird im Status der portalen Hypertension erniedrigt ist. Die verminderte Druckantwort auf die perivaskuläre Nervenstimulation, welche gleichzusetzen ist mit dem Grad der Desensibilisierung, war bei portaler Hypertension verstärkt. Die Freisetzung von Noradrenalin war gesteigert, wohingegen die Ausschüttung des NPY bei Zirrhose vermindert war. Die Zugabe von exogenem NPY führte zu einer deutlichen Erholung von der Desensibilisierung und damit zu einer Verbesserung der Vasokonstriktion bei zirrhotischen Ratten. Dieses Phänomen war mit einer starken Abnahme der Noradrenalinausschüttung assoziiert (Dietrich et al. 2013).

Im Hinblick auf die eben beschriebenen Untersuchungsergebnisse bildet die durchgeführte Arbeit einen weiteren wichtigen Baustein um das Wissen der

Wirkung und Auswirkungen des NPY. Unsere Arbeit konnte zeigen, dass durch NPY auch die Endothelin-1-vermittelte Vasokonstriktion im mesenterialen Gefäßbett der Ratte, bei vorliegender prähepatischer portaler Hypertension, verstärkt wird. Ein weiterer Teilaspekt ist, dass sich bei portal-hypertensiven Tieren mit zunehmender Höhe der Konzentration des Endothelin-1 die Wirkung des NPYs ebenso verstärkt. Außerdem stellte sich heraus, dass es durch NPY zu einer Steigerung der Sensitivität für eine Endothelin-1-vermittelte Gefäßkontraktion kommt, welche bei gesunden und portal-hypertensiven Tieren ähnlich stark ausfällt. Dagegen führt NPY nur bei PVL-, nicht jedoch bei Kontroll-Ratten zu einer wesentlichen Steigerung der maximalen mesenterialen Gefäßkontraktilität. Damit ist NPY der einzige vasokonstringierende Mediator, der bei Ratten mit portaler Hypertonie einen stärkeren vasokonstriktiven Effekt vermittelt als bei gesunden Kontrolltieren.

Bisher erwiesen sich bei portaler Hypertension (im Rahmen der verschiedenen Modelle, s.o.) alle angewandten Vasokonstriktoren schwächer wirksam als bei der gesunden Kontroll-Gruppe, d.h. sie lösten eine geringere Gefäßkontraktilität im Versuchsgewebe aus. Durch NPY kann erstmalig eine signifikante Verstärkung der kompromittierten Gefäßkontraktilität im Rahmen der portalen Hypertension erreicht werden.

NPY stellt somit eine neue therapeutische Möglichkeit als potenter Vasokonstriktor bei Menschen mit Leberzirrhose und portaler Hypertension dar.

Der NPY-Funktionsmechanismus ist letztlich noch nicht vollständig geklärt. Daher sind weitere Studien notwendig, um das große Potential dieses therapeutischen Ansatzpunktes auszuschöpfen und letztendlich für den klinischen Alltag zugänglich zu machen.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Die Leberzirrhose stellt weltweit die häufigste Ursache der portalen Hypertension dar. Diese ist durch ein gesteigertes Herzzeitvolumen sowie einen verminderten systemischen Gefäßwiderstand gekennzeichnet, welche zur splanchnischen und systemischen arteriellen Vasodilatation führen und dann im hyperdynamen Zirkulationssyndrom resultieren.

Die Ursache der vaskulären Hyporeaktivität bei Leberzirrhose konnte noch nicht eindeutig geklärt werden, allerdings sprechen viele Ergebnisse dafür, dass es sich um einen multifaktoriellen Mechanismus handelt. Eine wichtige Rolle scheinen die gesteigerte Aktivität der Vasodilatoren, die Rezeptor-Downregulation, Veränderungen bei der kontraktilen Signaltransduktion der glatten Muskelzellen und das vaskuläre Remodelling zu spielen (Hadoke and Hayes 1997; Hennenberg et al. 2008). Die genauen Pathomechanismen und Einflussfaktoren sind noch nicht bekannt. (Colle et al. 2004; Hennenberg et al. 2008). Klar ist allerdings, dass alle Mechanismen, die diese vaskuläre Hyporeaktivität aufheben oder zumindest abschwächen entscheidend für die Verbesserung der Grunderkrankungen sein können.

NPY ist ein Polypeptid, das aus 36 Aminosäuren besteht und 1980 durch Tatemoto et al. erstmals beschrieben wurde (Tatemoto et al. 1982). Es bindet im mesenterialen Gefäßbett hauptsächlich über den Y_1 -Rezeptor (Wahlestedt et al. 1990; McAuley and Westfall 1992; Fuhlendorff et al. 1990). NPY verstärkt potent den mittleren arteriellen Druck und den Gefäßwiderstand in vivo in Anwesenheit einer α_1 -adrenergen Stimulation, sowohl beim Tier, als auch beim Menschen. Es hat wenig oder keinen Einfluss auf die unmittelbare arterielle Gefäßkontraktion von Ratten. (Andriantsitohaina and Stoclet 1988; Clarke et al. 1987; Grundemar and Hogestatt

1992; Bergdahl et al. 1998) Zugeführtes NPY kann die vaskuläre Kontraktilität wiederherstellen und vermindert die pathologisch erhöhte Noradrenalin-Ausschüttung im mesenterialen Gefäßbett bei portaler Hypertension und kann so die vaskuläre Hyporeaktivität bei zirrhotischen Ratten entgegenwirken (Dietrich et al. 2013).

Endothelin-1 gilt als stärkster Vasokonstriktor in biologischen Systemen und wurde 1988 von Yanagisawa et al. entdeckt (Yanagisawa et al. 1988). Das Peptid setzt sich aus 21 Aminosäuren zusammen und ist innerhalb der verschiedenen Arten stark konserviert (Janes et al. 1994). Es induziert seinen vasokonstriktiven Effekt über den ET_A-Rezeptor in der arteriellen glatten Gefäßmuskelzelle und führt zu einer Erhöhung der Calciumspiegel auf zytosolischer und Zellkern-Ebene (D'Orleans-Juste et al. 1993; Rizzoni et al. 1997; Claing et al. 2002). Nachgewiesenermaßen erzeugt Endothelin-1 einen vasokonstriktiven Effekt im systemischen Kreislauf und in regionalen Gefäßbetten wie dem portalen, hepato-kollateralen, renalen, bronchialen und kutanen Gefäßbett. Der Effekt wird hierbei durch die systemische Vasokonstriktion erzielt, die für die Endothelin-1-induzierte arterielle Vasokonstriktion verantwortlich ist. Dabei spielt sowohl die Unversehrtheit des kontraktilen Apparates der glatten Muskelzelle, als auch der Anstieg des freien zytosolischen Calciums eine wichtige Rolle. (Hartleb et al. 1994)

Im Status der Leberzirrhose kommt es zu einer vermehrten Ausschüttung endogener Vasodilatoren (s.o.) und diese scheinen die Endothelin-1-induzierte zytosolische Calciumausschüttung einzuschränken. Der intrazelluläre Calciumanstieg resultiert aus der Öffnung von spannungsabhängigen L-Typ-Calciumkanälen und der Aktivierung eines G-Proteins. (Goto et al. 1989; Highsmith et al. 1992)

Obwohl Vergleiche unter den bislang veröffentlichten Studien zur Vasokonstriktion im mesenterialen Gefäßbett aufgrund der unterschiedlichen

Studienprotokolle schwierig sind, kristallisiert sich heraus, dass bisher alle Vasokonstriktoren weniger effektiv sind als Endothelin-1.

In unserer Versuchsreihe wurde die prähepatische portale Hypertension operativ durch die partielle Ligierung der V. portae induziert. Dieses Modell zeichnet sich durch seine hohe Reproduzierbarkeit aus und hat sich vielfach bewährt. D. D. McGregor entwickelte das angewandte in vitro Perfusionsmodell, mit dem annähernd in vivo-Bedingungen erreicht werden können und das ebenfalls zahlreichen Studien als Versuchsgrundlage diente (MCGREGOR 1965; Wiest et al. 1999a; Perez-Vizcaino et al. 1995).

Unsere Arbeit konnte zeigen, dass durch NPY die Endothelin-1-vermittelte Vasokonstriktion im mesenterialen Gefäßbett der Ratte, bei vorliegender prähepatischer portaler Hypertension, signifikant verstärkt wird. In der PVL-Gruppe war die maximale Effizienz (E_{max}) des Endothelin-1 durch das NPY im Vergleich zur Kontroll-Gruppe signifikant größer bei einem p-Wert von $<0,05$. Damit ließ sich eine spezifische Wirksamkeit des NPY, nämlich eine Steigerung der maximalen Gefäßkontraktilität speziell bei Tieren mit portalem Hochdruck beweisen. Unter der Einwirkung von NPY, sowohl bei den Kontrolltieren, als auch bei den PVL-Tieren kam es zu einer signifikanten Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve des Endothelin-1, d.h. dass der halbmaximale Effekt durch Endothelin-1 mit NPY deutlich eher erreicht wurde. Dies zeigt, dass es durch NPY zu einer Steigerung der Sensitivität für eine Endothelin-1-vermittelte Gefäßkontraktion kommt, welche bei gesunden und portal-hypertensiven Tieren ähnlich stark ausfällt. Wir konnten außerdem beweisen, dass sich bei portal-hypertensiven Tieren mit zunehmender Höhe der Konzentration des Endothelin-1 die Wirkung des NPYs verstärkt. Dagegen führte NPY nur bei PVL-, nicht jedoch bei Kontroll-Ratten zu einer wesentlichen Steigerung der maximalen mesenterialen Gefäßkontraktilität. Damit ist NPY der einzige vasokonstringierende Mediator, der

bei Ratten mit portaler Hypertonie einen stärkeren vasokonstriktiven Effekt vermittelt als bei gesunden Kontrolltieren.

Diese Arbeit stellt einen weiteren Baustein im Verständnis um die Wirkung des NPYs im Rahmen der portalen Hypertension dar. Mit NPY handelt es sich um einen potenten Neuromodulator der Vasokonstriktion im Rahmen der portalen Hypertonie, der nicht nur die α_1 -adrenerg-vermittelte Vasokonstriktion, sondern auch die Endothelin-1-vermittelte Vasokonstriktion effektiv steigert. Diese Erkenntnis ist eine wichtige Ergänzung zu den bislang vorliegenden Forschungsergebnissen und kann im Kampf gegen die vaskuläre Hyporeaktivität ein weiterer Angriffspunkt zur Verbesserung der Grunderkrankung sein.

Das behandelte Themengebiet ist ohne Zweifel faszinierend und bislang ausgiebig experimentell und klinisch erforscht worden. Die letzten 50 Jahre gab es einen enormen Fortschritt im Wissen über das Krankheitsbild der portalen Hypertension bis hin zur molekularen Ebene. Was ist nun aber die Quintessenz aus diesen Forschungsergebnissen? Genau diese Ergebnisse müssen in die Behandlungsmöglichkeiten der Leberzirrhose und ihrer umfangreichen Komplikationen umgesetzt werden.

Der NPY-Funktionsmechanismus ist bis heute nicht vollständig verstanden, dies macht weitere Studien notwendig, um die bislang vorliegenden Ergebnisse in einer klinischen Anwendung nutzen zu können.

Wir erhoffen uns, dass NPY besonders in Situationen, in denen die medikamentösen Optionen mittels der Katecholamine erreicht sind, ein Angriffspunkt der Therapieerweiterung wird. Dieser Gedanke beschränkt sich nicht nur auf leberspezifische Probleme wie die Leberzirrhose, portale Hypertonie oder das Vollbild eines hyperdynamen Zirkulationssyndroms, sondern erstreckt

sich auch in den Bereich der Intensivmedizin, wie z.B. beim hämorrhagischen Schock, der Sepsis, oder dem Multiorganversagen.

6 Quellenverzeichnis

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Sequenz der Pathologien bei chronischer Lebererkrankung;	17
Abbildung 2: Vasodilatation und ihre Wirkung auf die Organsysteme	21
Abbildung 3: Vasokonstriktoren bei splanchnischer Vasodilatation	25
Abbildung 4: Vaskuläre Reaktivität im Rahmen des HZS	30
Abbildung 5: NPY-Struktur	35
Abbildung 6: ET-1 Struktur	39
Abbildung 7: Operationssitus einer gesunden Sham-Ratte	49
Abbildung 8: Mesenteriales Versuchspräparat	51
Abbildung 9: Perfusionsanlage	53
Abbildung 10: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes	55
Abbildung 11: Vergleich des Milzgewichtes von PVL- und Sham-Ratten	58
Abbildung 12: Vergleich des Basaldruckes von PVL- und Sham-Ratten	58
Abbildung 13: In vitro Perfusionskurve des mesenterialen Gefäßbettes einer Sham-Ratte ohne und mit NPY-Inkubation	59
Abbildung 14: In vitro Perfusionskurve des mesenterialen Gefäßbettes einer PVL-Ratte ohne und mit NPY-Inkubation	60
Abbildung 15: Dosis-Wirkungs-Kurve von Endothelin-1	61
Abbildung 16: Veränderungen der vaskulären Reaktivität absolut	62
Abbildung 17: Veränderungen der vaskulären Reaktivität prozentual	63
Abbildung 18: Linksverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve durch NPY gegenüber Endothelin-1	65

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Substanzen	44
Tabelle 2: Geräte.....	47
Tabelle 3: Konzentrationen der Bestandteile der Krebs-Henseleit-Lösung in [mM]	52
Tabelle 4: Konzentrationen von Endothelin-1 in molarer Masse [M] und Gramm [g]	54

6.3 Literaturverzeichnis

- Abraldes, J. G., Pasarin, M., and Garcia-Pagan, J. C. (2006b). "Animal models of portal hypertension." *World J. Gastroenterol.*, 12(41), 6577-6584.
- Agnati, L. F., Fuxe, K., Benfenati, F., Battistini, N., Harfstrand, A., Tatemoto, K., Hokfelt, T., and Mutt, V. (1983). "Neuropeptide Y in vitro selectivity increases the number of alpha 2-adrenergic binding sites in membranes of the medulla oblongata of the rat." *Acta Physiol Scand.*, 118(3), 293-295.
- Alvan, G., Paintaud, G., and Wakelkamp, M. (1999). "The efficiency concept in pharmacodynamics." *Clin. Pharmacokinet.*, 36(5), 375-389.
- Andriantsitohaina, R., and Stoclet, J. C. (1988). "Potentiation by neuropeptide Y of vasoconstriction in rat resistance arteries." *Br. J. Pharmacol.*, 95(2), 419-428.
- Andriantsitohaina, R., and Stoclet, J. C. (1990). "Enhancement by neuropeptide Y (NPY) of the dihydropyridine-sensitive component of the response to alpha 1-adrenoceptor stimulation in rat isolated mesenteric arterioles." *Br. J. Pharmacol.*, 99(2), 389-395.
- Attina, T., Camidge, R., Newby, D. E., and Webb, D. J. (2005). "Endothelin antagonism in pulmonary hypertension, heart failure, and beyond." *Heart*, 91(6), 825-831.
- Bachmann-Brandt, S., Bittner, I., Neuhaus, P., Frei, U., and Schindler, R. (2000). "Plasma levels of endothelin-1 in patients with the hepatorenal syndrome after successful liver transplantation." *Transpl. Int.*, 13(5), 357-362.

- Bari, K., and Garcia-Tsao, G. (2012). "Treatment of portal hypertension." *World J. Gastroenterol.*, 18(11), 1166-1175.
- Benarroch, E. E. (1994). "Neuropeptides in the sympathetic system: presence, plasticity, modulation, and implications." *Ann. Neurol.*, 36(1), 6-13.
- Bergdahl, A., Nilsson, T., Sun, X. Y., Hedner, T., and Edvinsson, L. (1998). "Altered neuropeptide Y Y1 responses in mesenteric arteries in rats with congestive heart failure." *Eur. J. Pharmacol.*, 360(2-3), 165-173.
- Bernard, B., Lebrec, D., Mathurin, P., Opolon, P., and Poynard, T. (1997). "Beta-adrenergic antagonists in the prevention of gastrointestinal rebleeding in patients with cirrhosis: a meta-analysis." *Hepatology*, 25(1), 63-70.
- Bernardi, M., Caraceni, P., Navickis, R. J., and Wilkes, M. M. (2012). "Albumin infusion in patients undergoing large-volume paracentesis: a meta-analysis of randomized trials." *Hepatology*, 55(4), 1172-1181.
- Bhathal, P. S., and Grossman, H. J. (1985). "Reduction of the increased portal vascular resistance of the isolated perfused cirrhotic rat liver by vasodilators." *J. Hepatol.*, 1(4), 325-337.
- Biecker, E. (2011). "Diagnosis and therapy of ascites in liver cirrhosis." *World J. Gastroenterol.*, 17(10), 1237-1248.
- Bomzon, A., and Blendis, L. M. (1987). "Vascular reactivity in experimental portal hypertension." *Am. J. Physiol.*, 252(2 Pt 1), G158-G162.
- Brothers, S. P., and Wahlestedt, C. (2010). "Therapeutic potential of neuropeptide Y (NPY) receptor ligands." *EMBO Mol. Med.*, 2(11), 429-439.
- Castro, A., Jimenez, W., Claria, J., Ros, J., Martinez, J. M., Bosch, M., Arroyo, V., Piulats, J., Rivera, F., and Rodes, J. (1993). "Impaired responsiveness to angiotensin II in experimental cirrhosis: role of nitric oxide." *Hepatology*, 18(2), 367-372.
- Cavasin, M. A., Semus, H., Pitts, K., Peng, Y., Sandoval, J., Chapo, J., and Plato, C. F. (2010). "Acute effects of endothelin receptor antagonists on hepatic hemodynamics of cirrhotic and noncirrhotic rats." *Can. J. Physiol Pharmacol.*, 88(6), 636-643.
- Chan, C. C., Wang, S. S., Lee, F. Y., Chang, F. Y., Lin, H. C., Chu, C. J., Chen, C. T., Huang, H. C., and Lee, S. D. (2001). "Endothelin-1 induces vasoconstriction on portal-systemic collaterals of portal hypertensive rats." *Hepatology*, 33(4), 816-820.

- Chojkier, M., and Groszmann, R. J. (1981). "Measurement of portal-systemic shunting in the rat by using gamma-labeled microspheres." *Am. J. Physiol.*, 240(5), G371-G375.
- Claing, A., Shbaklo, H., Plante, M., Bkaily, G., and D'Orleans-Juste, P. (2002). "Comparison of the contractile and calcium-increasing properties of platelet-activating factor and endothelin-1 in the rat mesenteric artery and vein." *Br. J. Pharmacol.*, 135(2), 433-443.
- Clarke, J. G., Davies, G. J., Kerwin, R., Hackett, D., Larkin, S., Dawbarn, D., Lee, Y., Bloom, S. R., Yacoub, M., and Maseri, A. (1987). "Coronary artery infusion of neuropeptide Y in patients with angina pectoris." *Lancet*, 1(8541), 1057-1059.
- Colle, I. O., De Vriese, A. S., Van Vlierberghe, H. R., Lameire, N. H., and De Vos, M. M. (2004). "Vascular hyporesponsiveness in the mesenteric artery of anaesthetized rats with cirrhosis and portal hypertension: an in-vivo study." *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 16(2), 139-145.
- D'Orleans-Juste, P., Claing, A., Warner, T. D., Yano, M., and Telemaque, S. (1993). "Characterization of receptors for endothelins in the perfused arterial and venous mesenteric vasculatures of the rat." *Br. J. Pharmacol.*, 110(2), 687-692.
- Davenport, A., Ahmad, J., Al-Khafaji, A., Kellum, J. A., Genyk, Y. S., and Nadim, M. K. (2012). "Medical management of hepatorenal syndrome." *Nephrol. Dial. Transplant.*, 27(1), 34-41.
- Dell'era, A., and Bosch, J. (2004). "Review article: the relevance of portal pressure and other risk factors in acute gastro-oesophageal variceal bleeding." *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 20 Suppl 3, 8-15.
- Dib, N., Oberti, F., and Cales, P. (2006). "Current management of the complications of portal hypertension: variceal bleeding and ascites." *CMAJ.*, 174(10), 1433-1443.
- Dietrich, P., Moleda, L., Kees, F., Muller, M., Straub, R. H., Hellerbrand, C., and Wiest, R. (2013). "Dysbalance in sympathetic neurotransmitter release and action in cirrhotic rats: impact of exogenous neuropeptide Y." *J. Hepatol.*, 58(2), 254-261.
- Epstein, M., Berk, D. P., Hollenberg, N. K., Adams, D. F., Chalmers, T. C., Abrams, H. L., and Merrill, J. P. (1970). "Renal failure in the patient with cirrhosis. The role of active vasoconstriction." *Am. J. Med.*, 49(2), 175-185.

- Firth, J. D., Ratcliffe, P. J., Raine, A. E., and Ledingham, J. G. (1988). "Endothelin: an important factor in acute renal failure?" *Lancet*, 2(8621), 1179-1182.
- Frith, J., Jones, D., and Newton, J. L. (2009). "Chronic liver disease in an ageing population." *Age Ageing*, 38(1), 11-18.
- Fuhendorff, J., Gether, U., Aakerlund, L., Langeland-Johansen, N., Thogersen, H., Melberg, S. G., Olsen, U. B., Thastrup, O., and Schwartz, T. W. (1990). "[Leu31, Pro34]neuropeptide Y: a specific Y1 receptor agonist." *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 87(1), 182-186.
- Gandhi, C. R., Stephenson, K., and Olson, M. S. (1990). "Endothelin, a potent peptide agonist in the liver." *J. Biol. Chem.*, 265(29), 17432-17435.
- Garcia-Pagan, J. C., Feu, F., Castells, A., Luca, A., Hermida, R. C., Rivera, F., Bosch, J., and Rodes, J. (1994). "Circadian variations of portal pressure and variceal hemorrhage in patients with cirrhosis." *Hepatology*, 19(3), 595-601.
- Garcia-Pagan, J. C., Santos, C., Barbera, J. A., Luca, A., Roca, J., Rodriguez-Roisin, R., Bosch, J., and Rodes, J. (1996). "Physical exercise increases portal pressure in patients with cirrhosis and portal hypertension." *Gastroenterology*, 111(5), 1300-1306.
- Garcia-Tsao, G. (2001). "Current management of the complications of cirrhosis and portal hypertension: variceal hemorrhage, ascites, and spontaneous bacterial peritonitis." *Gastroenterology*, 120(3), 726-748.
- Garcia-Tsao, G., Groszmann, R. J., Fisher, R. L., Conn, H. O., Atterbury, C. E., and Glickman, M. (1985). "Portal pressure, presence of gastroesophageal varices and variceal bleeding." *Hepatology*, 5(3), 419-424.
- Goto, K., Kasuya, Y., Matsuki, N., Takuwa, Y., Kurihara, H., Ishikawa, T., Kimura, S., Yanagisawa, M., and Masaki, T. (1989). "Endothelin activates the dihydropyridine-sensitive, voltage-dependent Ca²⁺ channel in vascular smooth muscle." *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 86(10), 3915-3918.
- Groszmann, R. J. (1994). "Hyperdynamic circulation of liver disease 40 years later: pathophysiology and clinical consequences." *Hepatology*, 20(5), 1359-1363.
- Groszmann, R. J., and Abraldes, J. G. (2005). "Portal hypertension: from bedside to bench." *J. Clin. Gastroenterol.*, 39(4 Suppl 2), S125-S130.
- Grundemar, L., and Hogestatt, E. D. (1992). "Unmasking the vasoconstrictor response to neuropeptide Y and its interaction with vasodilating agents in vitro." *Eur. J. Pharmacol.*, 221(1), 71-76.

- Grundemar, L., Jonas, S. E., Morner, N., Hogestatt, E. D., Wahlestedt, C., and Hakanson, R. (1992). "Characterization of vascular neuropeptide Y receptors." *Br. J. Pharmacol.*, 105(1), 45-50.
- Hadoke, P. W., and Hayes, P. C. (1997). "In vitro evidence for vascular hyporesponsiveness in clinical and experimental cirrhosis." *Pharmacol. Ther.*, 75(1), 51-68.
- Hartleb, M., Moreau, R., Cailmail, S., Gaudin, C., and Lebrec, D. (1994). "Vascular hyporesponsiveness to endothelin 1 in rats with cirrhosis." *Gastroenterology*, 107(4), 1085-1093.
- Hennenberg, M., Trebicka, J., Biecker, E., Schepke, M., Sauerbruch, T., and Heller, J. (2007). "Vascular dysfunction in human and rat cirrhosis: role of receptor-desensitizing and calcium-sensitizing proteins." *Hepatology*, 45(2), 495-506.
- Hennenberg, M., Trebicka, J., Sauerbruch, T., and Heller, J. (2008). "Mechanisms of extrahepatic vasodilation in portal hypertension." *Gut*, 57(9), 1300-1314.
- Highsmith, R. F., Blackburn, K., and Schmidt, D. J. (1992). "Endothelin and calcium dynamics in vascular smooth muscle." *Annu. Rev. Physiol*, 54, 257-277.
- Houlihan, D. D., Holt, A., Elliot, C., and Ferguson, J. W. (2012). "Review article: liver transplantation for the pulmonary disorders of portal hypertension." *Aliment. Pharmacol. Ther.*.
- Huang, Y. T., Wang, G. F., Yang, M. C., Chang, S. P., Lin, H. C., and Hong, C. Y. (1996). "Vascular hyporesponsiveness in aorta from portal hypertensive rats: possible sites of involvement." *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 278(2), 535-541.
- Iwakiri, Y., and Groszmann, R. J. (2006). "The hyperdynamic circulation of chronic liver diseases: from the patient to the molecule." *Hepatology*, 43(2 Suppl 1), S121-S131.
- Iyer, V. N., Swanson, K. L., Cartin-Ceba, R., Dierkhising, R. A., Rosen, C. B., Heimbach, J. K., Wiesner, R. H., and Krowka, M. J. (2012). "Hepatopulmonary syndrome: Favorable outcomes in the MELD exception era." *Hepatology*.
- Janes, R. W., Peapus, D. H., and Wallace, B. A. (1994). "The crystal structure of human endothelin." *Nat. Struct. Biol.*, 1(5), 311-319.
- Kapoor, D., Redhead, D. N., Hayes, P. C., Webb, D. J., and Jalan, R. (2003). "Systemic and regional changes in plasma endothelin following transient increase in portal pressure." *Liver Transpl.*, 9(1), 32-39.

- Kiel, J. W., Pitts, V., Benoit, J. N., Granger, D. N., and Shepherd, A. P. (1985). "Reduced vascular sensitivity to norepinephrine in portal-hypertensive rats." *Am. J. Physiol.*, 248(2 Pt 1), G192-G195.
- Koseki, C., Imai, M., Hirata, Y., Yanagisawa, M., and Masaki, T. (1989). "Binding sites for endothelin-1 in rat tissues: an autoradiographic study." *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 13 Suppl 5, S153-S154.
- KOWALSKI, H. J., and ABELMANN, W. H. (1953). "The cardiac output at rest in Laennec's cirrhosis." *J. Clin. Invest.*, 32(10), 1025-1033.
- Larhammar, D. (1996). "Evolution of neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide." *Regul. Pept.*, 62(1), 1-11.
- Lee, E. W., Michalkiewicz, M., Kitlinska, J., Kalezic, I., Switalska, H., Yoo, P., Sangkharat, A., Ji, H., Li, L., Michalkiewicz, T., Ljubisavljevic, M., Johansson, H., Grant, D. S., and Zukowska, Z. (2003). "Neuropeptide Y induces ischemic angiogenesis and restores function of ischemic skeletal muscles." *J. Clin. Invest.*, 111(12), 1853-1862.
- Lee, S. S., Hadengue, A., Moreau, R., Sayegh, R., Hillon, P., and Lebrec, D. (1988). "Postprandial hemodynamic responses in patients with cirrhosis." *Hepatology*, 8(3), 647-651.
- Luca, A., Garcia-Pagan, J. C., Bosch, J., Feu, F., Caballeria, J., Groszmann, R. J., and Rodes, J. (1997). "Effects of ethanol consumption on hepatic hemodynamics in patients with alcoholic cirrhosis." *Gastroenterology*, 112(4), 1284-1289.
- Lundberg, J. M., Franco-Cereceda, A., Lacroix, J. S., and Pernow, J. (1990). "Neuropeptide Y and sympathetic neurotransmission." *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 611, 166-174.
- Martell, M., Coll, M., Ezkurdia, N., Raurell, I., and Genesca, J. (2010). "Physiopathology of splanchnic vasodilation in portal hypertension." *World J. Hepatol.*, 2(6), 208-220.
- Maruyama, H., and Yokosuka, O. (2012). "Pathophysiology of portal hypertension and esophageal varices." *Int. J. Hepatol.*, 2012, 895787.
- McAuley, M. A., and Westfall, T. C. (1992). "Possible location and function of neuropeptide Y receptor subtypes in the rat mesenteric arterial bed." *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 261(3), 863-868.

- McDermott, B. J., Millar, B. C., and Piper, H. M. (1993). "Cardiovascular effects of neuropeptide Y: receptor interactions and cellular mechanisms." *Cardiovasc. Res.*, 27(6), 893-905.
- MCGREGOR, D. D. (1965). "THE EFFECT OF SYMPATHETIC NERVE STIMULATION OF VASOCONSTRICTOR RESPONSES IN PERFUSED MESENTERIC BLOOD VESSELS OF THE RAT." *J. Physiol*, 177, 21-30.
- Minano, C., and Garcia-Tsao, G. (2010). "Clinical pharmacology of portal hypertension." *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 39(3), 681-695.
- Moleda, L., Trebicka, J., Dietrich, P., Gabele, E., Hellerbrand, C., Straub, R. H., Sauerbruch, T., Schoelmerich, J., and Wiest, R. (2011). "Amelioration of portal hypertension and the hyperdynamic circulatory syndrome in cirrhotic rats by neuropeptide Y via pronounced splanchnic vasoaction." *Gut*, 60(8), 1122-1132.
- Montrose, M. H. (1997). "Multiple targets for endothelin-1 in human intestine." *J. Physiol*, 499 (Pt 2), 289.
- Moore, K. (2004). "Endothelin and vascular function in liver disease." *Gut*, 53(2), 159-161.
- Moore, K., Wendon, J., Frazer, M., Karani, J., Williams, R., and Badr, K. (1992). "Plasma endothelin immunoreactivity in liver disease and the hepatorenal syndrome." *N. Engl. J. Med.*, 327(25), 1774-1778.
- Moore, K. P., Wong, F., Gines, P., Bernardi, M., Ochs, A., Salerno, F., Angeli, P., Porayko, M., Moreau, R., Garcia-Tsao, G., Jimenez, W., Planas, R., and Arroyo, V. (2003). "The management of ascites in cirrhosis: report on the consensus conference of the International Ascites Club." *Hepatology*, 38(1), 258-266.
- Murray, B. M., and Paller, M. S. (1985). "Decreased pressor reactivity to angiotensin II in cirrhotic rats. Evidence for a post-receptor defect in angiotensin action." *Circ. Res.*, 57(3), 424-431.
- Orloff, M. J. (2014). "Fifty-three years' experience with randomized clinical trials of emergency portacaval shunt for bleeding esophageal varices in Cirrhosis: 1958-2011." *JAMA Surg.*, 149(2), 155-169.
- Ortiz, M. C., Fortepiani, L. A., Martinez, C., Atucha, N. M., and Garcia-Estan, J. (1996). "Vascular hyporesponsiveness in aortic rings from cirrhotic rats: role of nitric oxide and endothelium." *Clin. Sci. (Lond)*, 91(6), 733-738.

- Palma, D. T., and Fallon, M. B. (2006). "The hepatopulmonary syndrome." *J. Hepatol.*, 45(4), 617-625.
- Pedragosa-Badia, X., Stichel, J., and Beck-Sickinger, A. G. (2013). "Neuropeptide Y receptors: how to get subtype selectivity." *Front Endocrinol. (Lausanne)*, 4, 5.
- Perez-Vizcaino, F., Cooper, A. C., Corder, R., Fournier, A., and Warner, T. D. (1995). "Rapid degradation of endothelin-1 by an enzyme released by the rat isolated perfused mesentery." *Br. J. Pharmacol.*, 114(4), 867-871.
- Pernow, J., Saria, A., and Lundberg, J. M. (1986). "Mechanisms underlying pre- and postjunctional effects of neuropeptide Y in sympathetic vascular control." *Acta Physiol Scand.*, 126(2), 239-249.
- Pitts, K. R. (2009). "Endothelin receptor antagonism in portal hypertension." *Expert. Opin. Investig. Drugs*, 18(2), 135-142.
- Polio, J., Sieber, C. C., Lerner, E., and Groszmann, R. J. (1993). "Cardiovascular hyporesponsiveness to norepinephrine, propranolol and nitroglycerin in portal-hypertensive and aged rats." *Hepatology*, 18(1), 128-136.
- Porres-Aguilar, M., Altamirano, J. T., Torre-Delgadillo, A., Charlton, M. R., and Duarte-Rojo, A. (2012). "Portopulmonary hypertension and hepatopulmonary syndrome: a clinician-oriented overview." *Eur. Respir. Rev.*, 21(125), 223-233.
- Rizzoni, D., Porteri, E., Piccoli, A., Castellano, M., Bettoni, G., Pasini, G., and Agabiti-Rosei, E. (1997). "The vasoconstriction induced by endothelin-1 is mediated only by ET(A) receptors in mesenteric small resistance arteries of spontaneously hypertensive rats and Wistar Kyoto rats." *J. Hypertens.*, 15(12 Pt 2), 1653-1657.
- Robich, M. P., Matyal, R., Chu, L. M., Feng, J., Xu, S. H., Laham, R. J., Hess, P. E., Bianchi, C., and Sellke, F. W. (2010). "Effects of neuropeptide Y on collateral development in a swine model of chronic myocardial ischemia." *J. Mol. Cell Cardiol.*, 49(6), 1022-1030.
- Rodriguez-Roisin, R., and Krowka, M. J. (2008). "Hepatopulmonary syndrome--a liver-induced lung vascular disorder." *N. Engl. J. Med.*, 358(22), 2378-2387.
- Rodriguez-Roisin, R., Krowka, M. J., Herve, P., and Fallon, M. B. (2004). "Pulmonary-Hepatic vascular Disorders (PHD)." *Eur. Respir. J.*, 24(5), 861-880.

- Rodriguez-Vilarrupla, A., Fernandez, M., Bosch, J., and Garcia-Pagan, J. C. (2007). "Current concepts on the pathophysiology of portal hypertension." *Ann. Hepatol.*, 6(1), 28-36.
- Schuppan, D., and Afdhal, N. H. (2008). "Liver cirrhosis." *Lancet*, 371(9615), 838-851.
- Shah, V., Wiest, R., Garcia-Cardena, G., Cadelina, G., Groszmann, R. J., and Sessa, W. C. (1999). "Hsp90 regulation of endothelial nitric oxide synthase contributes to vascular control in portal hypertension." *Am. J. Physiol*, 277(2 Pt 1), G463-G468.
- Shine, J., Potter, E. K., Biden, T., Selbie, L. A., and Herzog, H. (1994). "Neuropeptide Y and regulation of the cardiovascular system." *J. Hypertens. Suppl*, 12(10), S41-S45.
- Sieber, C. C., and Groszmann, R. J. (1992a). "In vitro hyporeactivity to methoxamine in portal hypertensive rats: reversal by nitric oxide blockade." *Am. J. Physiol*, 262(6 Pt 1), G996-1001.
- Sieber, C. C., and Groszmann, R. J. (1992b). "Nitric oxide mediates hyporeactivity to vasopressors in mesenteric vessels of portal hypertensive rats." *Gastroenterology*, 103(1), 235-239.
- Sikuler, E., and Groszmann, R. J. (1986). "Interaction of flow and resistance in maintenance of portal hypertension in a rat model." *Am. J. Physiol*, 250(2 Pt 1), G205-G212.
- Sikuler, E., Kravetz, D., and Groszmann, R. J. (1985). "Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model." *Am. J. Physiol*, 248(6 Pt 1), G618-G625.
- Sogni, P., Sabry, S., Moreau, R., Gadano, A., Lebrec, D., and Dinh-Xuan, A. T. (1996). "Hyporeactivity of mesenteric resistance arteries in portal hypertensive rats." *J. Hepatol.*, 24(4), 487-490.
- Starback, P., Wraith, A., Eriksson, H., and Larhammar, D. (2000). "Neuropeptide Y receptor gene $\gamma 6$: multiple deaths or resurrections?" *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 277(1), 264-269.
- Sundler, F., Hakanson, R., Ekblad, E., Uddman, R., and Wahlestedt, C. (1986). "Neuropeptide Y in the peripheral adrenergic and enteric nervous systems." *Int. Rev. Cytol.*, 102, 243-269.

- Tatemoto, K., Carlquist, M., and Mutt, V. (1982). "Neuropeptide Y--a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide." *Nature*, 296(5858), 659-660.
- Uemasu, J., Matsumoto, H., and Kawasaki, H. (1992). "Increased plasma endothelin levels in patients with liver cirrhosis." *Nephron*, 60(3), 380.
- Vorobioff, J., Bredfeldt, J. E., and Groszmann, R. J. (1983). "Hyperdynamic circulation in portal-hypertensive rat model: a primary factor for maintenance of chronic portal hypertension." *Am. J. Physiol*, 244(1), G52-G57.
- Wadei, H. M. (2012). "Hepatorenal syndrome: a critical update." *Semin. Respir. Crit Care Med.*, 33(1), 55-69.
- Wahlestedt, C., Grundemar, L., Hakanson, R., Heilig, M., Shen, G. H., Zukowska-Grojec, Z., and Reis, D. J. (1990). "Neuropeptide Y receptor subtypes, Y1 and Y2." *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 611, 7-26.
- Wang, Y., Zhang, D., Ashraf, M., Zhao, T., Huang, W., Ashraf, A., and Balasubramaniam, A. (2010). "Combining neuropeptide Y and mesenchymal stem cells reverses remodeling after myocardial infarction." *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol*, 298(1), H275-H286.
- Wen, Z., Zhang, J. Z., Xia, H. M., Yang, C. X., and Chen, Y. J. (2009). "Stability of a rat model of prehepatic portal hypertension caused by partial ligation of the portal vein." *World J. Gastroenterol.*, 15(32), 4049-4054.
- Wiest, R. (2007). "Splanchnic and systemic vasodilation: the experimental models." *J. Clin. Gastroenterol.*, 41 Suppl 3, S272-S287.
- Wiest, R., Das, S., Cadelina, G., Garcia-Tsao, G., Milstien, S., and Groszmann, R. J. (1999a). "Bacterial translocation in cirrhotic rats stimulates eNOS-derived NO production and impairs mesenteric vascular contractility." *J. Clin. Invest*, 104(9), 1223-1233.
- Wiest, R., and Groszmann, R. J. (1999). "Nitric oxide and portal hypertension: its role in the regulation of intrahepatic and splanchnic vascular resistance." *Semin. Liver Dis.*, 19(4), 411-426.
- Wiest, R., Jurzik, L., Herold, T., Straub, R. H., and Scholmerich, J. (2007). "Role of NPY for vasoregulation in the splanchnic circulation during portal hypertension." *Peptides*, 28(2), 396-404.

- Wiest, R., Jurzik, L., Moleda, L., Froh, M., Schnabl, B., von Horsten, S., Scholmerich, J., and Straub, R. H. (2006). "Enhanced Y1-receptor-mediated vasoconstrictive action of neuropeptide Y (NPY) in superior mesenteric arteries in portal hypertension." *J. Hepatol.*, 44(3), 512-519.
- Wiest, R., Lock, G., and Schoelmerich, J. (2000). "Portal Hypertension." *Der Internist* 2000 - 41, 1077-1095.
- Wiest, R., Moleda, L., Zietz, B., Hellerbrand, C., Scholmerich, J., and Straub, R. (2008). "Uncoupling of sympathetic nervous system and hypothalamic-pituitary-adrenal axis in cirrhosis." *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 23(12), 1901-1908.
- Wiest, R., Shah, V., Sessa, W. C., and Groszmann, R. J. (1999b). "NO overproduction by eNOS precedes hyperdynamic splanchnic circulation in portal hypertensive rats." *Am. J. Physiol.*, 276(4 Pt 1), G1043-G1051.
- Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y., Yazaki, Y., Goto, K., and Masaki, T. (1988). "A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells." *Nature*, 332(6163), 411-415.
- Younossi, Z. M., Stepanova, M., Afendy, M., Fang, Y., Younossi, Y., Mir, H., and Srishord, M. (2011). "Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008." *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 9(6), 524-530.

7 Danksagung

Sehr herzlich möchte ich meinem Doktorvater Reiner Wiest für die Überlassung des interessanten Themas und seine ausdauernde Unterstützung bei dieser Arbeit danken. Auch meinem Betreuer Lukas Moleda möchte ich für die Hilfe im Labor und bei so mancher Frage danken.

An dieser Stelle will ich mich ganz besonders bei meinen Eltern bedanken. Sie haben mir das Medizinstudium ermöglicht und stehen mir in allen Lebenslagen immer mit Rat und Tat zur Seite zur Seite. Ohne Euch hätte ich das alles nie geschafft! Ihr seid großartig!

Liebe Eva, liebe Vroni, auf Euch ist immer Verlass, danke, dass ihr für mich da seid! Herzlichen Dank für das Korrekturlesen an meinen Onkel Christian!

Meinem Tom und all meinen Freunden Daniela, Kati, Tom, Stefan, Ulla und Tobi, die mich bei dieser Arbeit begleitet und motiviert haben und auf die ich immer zählen konnte/ kann, sage ich hier ebenfalls ein großes DANKESCHÖN!

8 Curriculum vitae

PERSÖNLICHE ANGABEN

Name: Franziska Eva Charlotte Schwan

Familienstand: ledig

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Geburtsdatum: 29. März 1985

Geburtsort: Regensburg

ARBEITSSTELLE

Seit 02/2012 Assistenzärztin für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde der Universitätsklinik Regensburg

AUSBILDUNG

11/2011 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

08/2010-07/2011 Praktisches Jahr

10/2009-02/2010 Studium an der Università degli studi di Verona, Italien, im Rahmen des Erasmus Programmes

04/2007 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Seit 10/2004 Studium der Humanmedizin, Universität Regensburg

05/2004 Abitur Deutsch, Sport, Religion, Mathematik

09/1995-06/2004 Werner-von-Siemens Gymnasium, Regensburg

09/1991-08/1995 Sallerner-Berg Grundschule, Regensburg

PROMOTION

02/2015: „Wirkung von Neuropeptid Y (NPY) auf die Endothelin-1-vermittelte Vasokonstriktion im mesenterialen Gefäßbett bei prähepatischer portaler Hypertension der Ratte“, Prof. Dr. med. Reiner Wiest, Universitätsklinik für Viszerale Chirurgie und Medizin, Abteilung für Gastroenterologie, Universitätsspital Bern, Schweiz

PRAKTISCHES JAHR

04/2011-07/2011 Innere Medizin, Krankenhaus Barmherzige Brüder, Regensburg

12/2010-04/2011 Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Universitätsklinikum Regensburg

10/2010-12/2010 Chirurgie, University of the Westindies, Nassau (Bahamas)

08/2010-10/2010 Viszeral-, Unfall-, Handchirurgie, Universitätsklinikum Regensburg

FAMULATUREN

02/2009-03/2009 Pädiatrie, Missionskrankenhaus St. Martin de Porres, Eikwe, Ghana
09/2008 Hals-Nasen-Ohren Heilkunde, Kaiser Franz Josef Spital Wien, Österreich
09/2008 Hals-Nasen-Ohren Heilkunde, Universitätsklinikum Wien, Österreich
08/2008 Allgemeinmedizin, Allgemeinärztliche Praxis, Königsdorf
03/2008 Orthopädie, Orthopädische Praxis, München

PFLEGEPRAKTIKA

07/2005-08/2005 Innere Medizin (Pneumologie, Krankenhaus Donaustauf – Zentrum für Pneumologie)
08/2004-09/2004 Innere Medizin (Nephrologie, Universitätsklinik Regensburg)

STIPENDIEN

10/2010-12/2010 PROMOS Stipendium
10/2009-02/2010 Erasmus Stipendium
09/2009 EILC Sprachkurs an der Università degli studi di Siena, Italien

EHRENÄMTER

Seit 1998 Mitglied im Mary Heaven Flyers Chor, Regensburg
2000-2012 Trainerin für Leichtathletik, Skifahren und Schwimmen im Ski- und Wander- Club `46 Regensburg
2004 Jugendübungsleiter-Lizenz des BLSV

FREMDSPRACHEN

Englisch verhandlungssicher, Italienisch sicher in Wort und Schrift

9 Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Regensburg, den 25. Februar 2015