

**INHALTSVERZEICHNIS.....I****VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN ..... V****ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE.....VI****1 EINLEITUNG ..... 1****1.1 Aufbau der Leber..... 1****1.1.1 Mikroskopische Anatomie ..... 2****1.1.2 Funktionelle Einheit..... 4****1.1.2.1 Der klassische Leber-Lobulus ..... 4****1.1.2.2 Der Azinus nach RAPPAPORT..... 5****1.2 Funktion der Leber ..... 6****1.3 Metabolische Heterogenität der Leber ..... 7****1.4 Hepatozellulärer Transport von Gallensalzen und organischen Anionen..... 9****1.4.1 Basolaterale Gallensalzaufnahme ..... 9****1.4.1.1 Natrium-abhängige Aufnahme von Gallensalzen ..... 9****1.4.1.2 Natrium-unabhängige Aufnahme von Gallensalzen ..... 10****1.4.2 Basolaterale Aufnahme von organischen Anionen..... 11****1.4.2.1 "Organic-Anion-Transporting-Polypeptid" 1a1 ..... 11****1.4.2.2 "Organic-Anion-Transporting-Polypeptid" 1a4 ..... 11****1.4.2.3 "Organic-Anion-Transporting-Polypeptid" 1b2 ..... 12****1.4.3 Kanalikuläre Gallensalzsekretion..... 13****1.4.4 Kanalikuläre Sekretion von organischen Anionen ..... 14****1.4.5 Basolateraler Export von Gallensalzen und organischen Anionen..... 14****1.4.6 Regulation von hepatobiliären Transportern bei Cholestase..... 15****1.5 Zielsetzung der Arbeit ..... 17****2 MATERIALIEN..... 18****2.1 Chemikalien..... 18****2.2 Puffer ..... 18**

2.3	Antikörper .....	19
2.3.1	Primärantikörper .....	19
2.3.2	Sekundärantikörper .....	20
2.4	Größen- und Molekulargewichtsmarker .....	21
2.5	Homogenisierungspuffer .....	21
2.6	Lösungen zur Herstellung von Gesamtproteinextrakten .....	21
2.7	Lösungen für die SDS-Polyacrylamid- Gelelektrophorese (SDS-PAGE) und den Western Blot .....	22
2.8	Primer für die Real Time-PCR .....	22
2.9	Fotoarbeiten und Bildverarbeitung .....	23
2.10	Sonstige Materialien .....	23
2.11	Geräte .....	23
<b>3</b>	<b>METHODEN .....</b>	<b>24</b>
3.1	RNA-Präparation und Real Time-PCR .....	24
3.1.1	Aufbereitung der Proben .....	24
3.1.2	RNA-Isolierung .....	24
3.1.3	Konzentrationsmessung .....	25
3.1.4	Reverse Transkription .....	26
3.1.5	Real Time-PCR .....	27
3.2	Proteinbiochemische Verfahren .....	29
3.2.1	Isolierung von Gesamt-Membranfraktionen aus Lebergewebe .....	29
3.2.2	Proteinbestimmung nach Bradford .....	29
3.2.3	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese .....	30
3.2.4	Immunoblot-Analyse (Western Blot) .....	31
3.2.4.1	Proteintransfer .....	31
3.2.4.2	Detektion durch Chemolumineszenz .....	32
3.2.4.3	Densitometrische Auswertung .....	32
3.3	Histologische Methoden .....	33
3.3.1	Indirekte Immunfluoreszenz .....	33
3.3.1.1	Herstellung von Gefrierschnitten .....	33

3.3.1.2	Fixierung.....	33
3.3.1.3	Indirekte Immunfluoreszenz .....	33
3.3.1.4	Konfokale Laserscanningmikroskopie.....	34
3.3.1.5	Densitometrische Analyse.....	34
3.4	Tierversuche.....	35
3.4.1	Versuchstiere und Haltung.....	35
3.4.1.1	Gallengangsligatur .....	35
3.4.1.1.1	Operation .....	35
3.4.1.1.2	Zytokininhibition .....	36
3.4.1.1.3	Organentnahme .....	36
3.4.1.2	Lipopolysaccharid-Gabe.....	36
3.4.1.2.1	Dosierung und Injektion .....	36
3.4.1.2.2	Organentnahme .....	36
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>37</b>
4.1	Real Time-PCR .....	37
4.1.1	mRNA-Expression von hepatobiliären Transportern nach obstruktiver Cholestase ..	37
4.1.2	mRNA-Expression von hepatobiliären Transportern nach Lipopolysaccharid-Gabe ..	39
4.1.3	mRNA-Expression von hepatobiliären Transportern nach obstruktiver Cholestase und Hemmung von TNF- $\alpha$ oder IL-1 $\beta$ .....	40
4.2	Western Blot.....	42
4.2.1	Proteinexpression von hepatobiliären Transportern nach obstruktiver Cholestase ..	42
4.2.2	Proteinexpression von hepatobiliären Transportern nach Lipopolysaccharid-Gabe...	44
4.2.3	Proteinexpression von hepatobiliären Transportern nach obstruktiver Cholestase und Hemmung von TNF- $\alpha$ oder IL-1 $\beta$ .....	46
4.3	Konfokale Laserscanningmikroskopie.....	48
4.3.1	Zonierte Regulation von hepatobiliären Transportern nach obstruktiver Cholestase ..	48
4.3.1.1	Effekte der Hemmung von TNF- $\alpha$ .....	55
4.3.1.2	Effekte der Hemmung von IL-1 $\beta$ .....	56
4.3.2	Zonierung von hepatobiliären Transportern nach Lipopolysaccharid-Gabe.....	59
4.3.3	Lobuläre Verteilung der proinflammatorischen Reaktionen nach obstruktiver Cholestase und nach Lipopolysaccharid-Gabe .....	65
4.3.3.1	Kupferzellen .....	65
4.3.3.2	Myeloperoxidase-positive Zellen.....	65
4.3.3.3	Interleukin 1 $\beta$ .....	66

<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>67</b>
	Hemmung der periportalen Herabregulation von Bsep durch Inhibition von TNF- $\alpha$ oder IL-1 $\beta$ .	68
	Zonierte Regulation von Ntcp .....	69
	Bedeutung der zonierten Regulation von Oatp1a4 und Oatp1b2 nach obstruktiver Cholestase	70
	Zonale Verteilung von hepatobiliären Transportern nach Lipopolysaccharid-Gabe .....	73
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>75</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>76</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>77</b>