

Chirurgische Klinik und Poliklinik I

Allgemein-, Gefäß- und Thoraxchirurgie

Universitätsklinikum Benjamin Franklin Freie Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. med. H. J. Buhr

**Verbesserung der Kontraktilität
von Dünndarmstreifen bei nekrotisierender Pankreatitis
durch NO-Antagonismus
und Einfluss von Endotoxin**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

des Fachbereichs

Humanmedizin

der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von

Susanne Rosemann

aus Wolfsburg

Referent: Prof. Dr. med. N. Runkel

Korreferent: Prof. Dr. med. A. R. Pries

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 17.05.2002

Widmung

Meine Promotion mit dem Titel: Verbesserung der Kontraktilität von Dünndarmstreifen bei nekrotisierender Pankreatitis durch NO-Antagonismus und Einfluss von Endotoxin, die mir freundlicherweise von der Chirurgische Klinik und Poliklinik I, Allgemein-, Gefäß- und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin zur Verfügung gestellt wurde, möchte ich im ganz besonderen meinem Vater widmen:

Prof. Dr.-Ing. Axel Rosemann
Elektronik und Optoelektronik

Hiermit möchte ich mich auch noch mal ganz speziell bei meinem Vater und meiner Mutter bedanken, dass sie mich im Studium unterstützt und somit die Anfertigung dieser Promotion ermöglicht haben.

Abstract

Increased contractility of the small intestine in acute necrotizing pancreatitis caused by the nitric oxide inhibitor l-nitro-arginine and the influence of endotoxine

Acute necrotizing pancreatitis significantly decreases the contractility of the gut. This complication of acute necrotizing pancreatitis may cause the reduced motility and the following bacterial translocation of bacteria of the gut and their components into mesenterial lymphknotes and far away organs like liver, lungs and kidneys. This is the beginning of sepsis. In the clinic this is the most crucial complication combined with a very high grade of case fatality.

In this study the nitric oxide (NO) production was inhibited in order to reduce the decreased motility of the gut. Therefore the nitric oxide inhibitor l-nitro-arginine (L-NAG) was used. L-nitro-arginine is a competitive inhibitor of the nitric oxide synthase and causes a reduced pool of NO. This study shows the significant increase of contractility caused by L-NAG in the control group as well as in the acute necrotizing pancreatitis group. This effect was only noticed during a short period of time. For the clinic this is a very important result because of the possible therapy concept. But l-nitro-arginine is not a proper inhibitor because of the nitric oxide antagonism and the muscarinerge antagonism. L-NAG increases the contractility for a short period of time followed by a decreased motility.

Further this study shows that lipopolysaccharide does not additively reduce contractility neither in the control group nor in the group with acute necrotizing pancreatitis. This result shows that endotoxine consequently is no mediator of the nitric oxide system. In addition this study shows that l-nitro-arginine has the same effect of increased contractility in both groups with endotoxine. This increase was only noticed for a short period of time like in the groups without endotoxine. It is not quite sure if this effect is dependent on the endotoxine dose. The effect of l-nitro-arginine cannot be influenced by endotoxine. Because of the combined inhibition of NO-synthase and the muscarinerge antagonism L-NAG is not a proper therapy for reduced contractility in acute necrotizing pancreatitis. For the improvement of this effect there would be a need for further examinations of other NO-synthase inhibitors.

Inhalt:

1	EINLEITUNG – ZIELSETZUNG DER UNTERSUCHUNG	11
1.1	SEPSIS	11
1.1.1	DEFINITION	11
1.1.2	BAKTERIELLE TRANSLOKATION ALS URSACHE DER SEPSIS	13
1.1.3	INTESTINALE MECHANISMEN DER BAKTERIELLEN TRANSLOKATION	14
1.2	CHARAKTERISIERUNG DER SUBSTANZEN	16
1.2.1	CARBACHOL	16
1.2.2	STICKSTOFFMONOXID - NO-ANTAGONISMUS	17
1.2.3	L-NITRO-ARGININ – L-NAG	19
1.2.4	LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) – ENDOTOXIN	20
1.3	ZIELSETZUNG DER UNTERSUCHUNG	23
1.4	FRAGESTELLUNG DER VORGELEGTEN UNTERSUCHUNG	24
2	MATERIAL UND METHODEN	25
2.1	MATERIAL	25
2.1.1	MESSPLATZ	25
2.1.2	VERWENDETE PHARMAKA	25
2.1.3	ORGANBAD	26
2.1.4	VERSUCHSTIERE	27
2.2	METHODEN	27
2.2.1	INDUKTION DER ANP	27
2.2.2	PRÄPARATION DER ILEUMSEGMENTE	30
2.2.3	MESSAPPARATUR	31
2.2.4	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	32
2.2.5	AUSWERTMETHODE DER KURVEN	33
2.2.6	BEURTEILUNG DER GEWEBEPROBEN	34
2.2.7	STATISTISCHE ANALYSE	34

3	ERGEBNISSE	37
3.1	EFFEKT DER NEKROTISIERENDEN PANKREATITIS (ANP) UND VON LPS BEI DEN CARBACHOL-INDUZIERTEN KONTRAKTIONEN	37
3.1.1	VERGLEICH NEKROTISIERENDE PANKREATITIS (ANP) GEGEN KONTROLLE	37
3.1.2	VERGLEICH NEKROTISIERENDE PANKREATITIS + LPS (ANP) GEGEN KONTROLLE + LPS	38
3.1.3	VERGLEICH KONTROLLE GEGEN KONTROLLE + LPS	40
3.1.4	VERGLEICH ANP GEGEN ANP + LPS	41
3.2	EFFEKT VON L-NITRO-ARGININ	42
3.2.1	KONTROLLTIERE	42
3.2.2	ANP-TIERE	44
3.2.3	KONTROLLTIERE + ENDOTOXIN	46
3.2.4	ANP-TIERE + ENDOTOXIN	48
3.3	BEWERTUNG DER GEWEBEBROBEN	50
4	DISKUSSION	53
4.1	METHODIK	53
4.2	VERSUCHSPROTOKOLL	54
4.3	KONTRAKTILITÄTSREDUKTION BEI AKUT-NEKROTISIERENDER PANKREATITIS	55
4.4	WIRKUNG DES NO-ANTAGONISTEN L-NITRO-ARGININ	56
4.5	KONTRAKTILITÄTSVERÄNDERUNGEN DURCH ENDOTOXIN	57
4.6	WIRKUNG DES L-NITRO-ARGININ NACH ENDOTOXIN-BEHANDLUNG	59
4.7	SCHLUSSFOLGERUNG	60
5	ZUSAMMENFASSUNG	63
6	LITERATURVERZEICHNIS	67

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Strukturformel des Carbachols ⁴¹	16
Abb. 2:	Schema der Pharmakologie der glatten Muskelzelle ⁴⁹	17
Abb. 3:	NO-Wirkungen	18
Abb. 4:	Strukturformel des Methylesters von L-NAG ⁹⁷	19
Abb. 5:	Wandaufbau von gram-negativen Bakterien ⁷⁰	21
Abb. 6:	Übersicht über die Wirkungen von Endotoxin ⁷⁰	22
Abb. 7:	Laborarbeitsplatz	26
Abb. 8:	Organbad	26
Abb. 9:	Jugularis-Katheter Implantation in der Ratte (Operationssitus)	28
Abb. 10:	Anatomie: Biliopankreatisches Gangsystem der Ratte und Position der Klemme ¹⁰²	29
Abb. 11:	Induktion der Pankreatitis: Klemme am Ductus choledochus; transduodenale Punktion der Papille Vateri (Operationssitus)	30
Abb. 12:	Schema des Organbads	31
Abb. 13:	Übersicht über den Versuchsablauf	33
Abb. 14:	Carbachol-induzierte Kontraktionen: nekrotisierende Pankreatitis (ANP) vs Kontrolle (* p<0,05)	38
Abb. 15:	Carbachol-induzierte Kontraktionen: nekrotisierende Pankreatitis (ANP) + LPS vs Kontrolle + LPS (* p<0,05)	39
Abb. 16:	Carbachol-induzierte Kontraktionen: Kontrolle vs Kontrolle + LPS	41
Abb. 17:	Carbachol-induzierte Kontraktionen: nekrotisierende Pankreatitis (ANP) vs nekrotisierende Pankreatitis (ANP) + LPS	42
Abb. 18:	Verlaufsdigramm der Kontraktilität bei Kontrolltieren nach Zugabe von l-Nitro-Arginin (* p<0,001 vs vorheriger Messwert)	43
Abb. 19:	Verlaufsdigramm in Prozent vom Ausgangswert bei Kontrolltieren nach Zugabe von l-Nitro-Arginin	44
Abb. 20:	Verlaufsdigramm der Kontraktilität bei nekrotisierender Pankreatitis (ANP) nach Zugabe von l-Nitro-Arginin (* p<0,03 vs vorheriger Messwert)	45
Abb. 21:	Verlaufsdigramm in Prozent vom Ausgangswert bei nekrotisierender Pankreatitis (ANP) nach Zugabe von l-Nitro-Arginin	46

Abb. 22:	Verlaufsdigramm der Kontraktilität bei Kontrolltieren+LPS nach Zugabe von l-Nitro-Arginin (* p<0,001 vs vorheriger Messwert)	47
Abb. 23:	Verlaufsdigramm in Prozent vom Ausgangswert bei Kontrolltieren + LPS nach Zugabe von l-Nitro-Arginin	48
Abb. 24:	Verlaufsdigramm der Kontraktilität bei nekrotisierender Pankreatitis (ANP) + LPS nach Zugabe von l-Nitro-Arginin (* p<0,001 vs vorheriger Messwert)	49
Abb. 25:	Verlaufsdigramm in Prozent vom Ausgangswert bei nekrotisierender Pankreatitis (ANP) + LPS nach Zugabe von l-Nitro-Arginin	50
Abb. 26:	Akut-nekrotisierende Pankreatitis - HE; x 55; Pfeil zeigt Hämorrhagie	51
Abb. 27:	Akut-nekrotisierende Pankreatitis - HE; x 55; Pfeile zeigen eine azinäre Nekrose mit granulocytärem Infiltrat	51
Abb. 28:	Akut-nekrotisierende Pankreatitis - HE; x 55; Pfeil zeigt Fettgewebsnekrosen	52

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Symptome der Sepsis ⁶	11
Tabelle 2:	Symptome des Systemic inflammatory Response Syndrom (SIRS) ⁶	12
Tabelle 3:	Zusammensetzung der Organbadlösung	32
Tabelle 4:	Versuchseinteilung (4 Gruppen); ANP = akut-nekrotisierende Pankreatitis LPS = Lipopolysaccharide; pro Gruppe werden 12 Darmsegmente untersucht	33
Tabelle 5:	Gruppierungen bei Anwendung des t-Tests für ungepaarte Stichproben	34
Tabelle 6:	Gruppierung bei Anwendung des t-Tests für abhängige Variablen	35
Tabelle 7:	Carbachol-induzierte Kontraktionen: akut-nekrotisierende Pankreatitis vs Kontrolle	37
Tabelle 8:	Carbachol-induzierte Kontraktionen: nekrotisierende Pankreatitis (ANP) + LPS vs Kontrolle + LPS	39
Tabelle 9:	Carbachol-induzierte Kontraktionen: Kontrolle vs Kontrolle + LPS	40
Tabelle 10:	Carbachol-induzierte Kontraktionen: nekrotisierende Pankreatitis (ANP) vs nekrotisierende Pankreatitis (ANP) + LPS	41
Tabelle 11:	Kontraktilität bei Kontrolltieren nach Zugabe von l-Nitro-Arginin; statistischer Vergleich mit dem vorherigen Messwert	43
Tabelle 12:	Kontraktilität bei ANP-Tiere nach Zugabe von l-Nitro-Arginin; statistischer Vergleich mit dem vorherigen Messwert	45
Tabelle 13:	Kontraktilität bei Kontrolltiere + LPS nach Zugabe von l-Nitro-Arginin; statistischer Vergleich mit dem vorherigen Messwert	47
Tabelle 14:	Kontraktilität bei ANP-Tiere + LPS nach Zugabe von l-Nitro-Arginin; statistischer Vergleich mit dem vorherigen Messwert	49

