

5 Zusammenfassung

Die Sepsis stellt nach heutigem Verständnis eine systemische Antwort des Körpers auf eine Infektion dar. Es kann aber auch ein sepsisähnlicher Zustand erreicht werden, ohne dass eine bakterielle Ursache gefunden werden kann. Diese Konstellation bezeichnet man dann als SIRS – „systemic inflammatory response syndrom“. Durch Infektionen oder ein gegebenes Trauma setzen Katalysatoren, wie z.B. Makrophagen, Mediatoren frei, zu denen unter anderem auch Stickstoffmonoxid zählt. Das SIRS ist eine typische Komplikation der Pankreatitis. In einer Reihe von experimentellen Untersuchungen wurde gezeigt, dass dabei der Mechanismus der „bakteriellen Translokation“ eine wichtige Rolle spielt. Für das Auftreten der bakteriellen Translokation werden drei Mechanismen verantwortlich gemacht: Immunsuppression, bakterielle Fehlbesiedlung des Darms, z.B. durch Reduktion der Motilität, und der Verlust Barrierefunktion der Darmwand. In dieser Studie stehen die Veränderungen der Kontraktilität als Teilaspekt der Motilität im Vordergrund des Interesses.

Stickstoffmonoxid, ein Botenstoff, wird mit Hilfe der NO-Synthase (NOS) aus L-Arginin gebildet. Die durch NO ausgelöste Kaskade führt zur Relaxation der glatten Muskelzelle. Das l-Nitro-Arginin (L-NAG) ist ein kompetitiven Inhibitor der NO-Synthase und führt zur Kontraktionssteigerung der glatten Muskulatur des Gastrointestinaltrakts. Zusätzlich hat L-NAG eine Affinität zu muscarinen Rezeptoren, wodurch eine Relaxation hervorgerufen wird. Bei der Verwendung dieser Substanz muss mit einer kombinierten Wirkung aus Inhibition der NO-Synthase und einem muscarinergen Antagonismus gerechnet werden.

Lipopolysaccharide (LPS) sind hitzestabile Toxine, die als Bestandteile der Wand von gram-negativen Bakterien vorkommen. Das LPS wird an ein LPS-Bindungsprotein (LBP) gebunden, und interagiert mit einem Membranprotein, dem CD14. Dieses Protein ist auf einer Vielzahl von Zellen anzutreffen, unter ihnen auch auf Makrophagen, Monocyten und neutrophile Granulocyten. Nach Bindung an Makrophagen werden Cytokine freigesetzt und das SIRS getriggert.

Die Induktion der ANP erfolgt durch eine intraduktale Applikation von Gallensäuren und einer intravenösen Hyperstimulation des Pankreas mit Cerulein.

Folgende Fragen werden im Einzelnen untersucht:

- Wie wird die Kontraktilität des Darms bei der akut-nekrotisierenden Pankreatitis beeinflusst?
- Welche Wirkung hat der NO-Antagonist L-NAG auf den Darm?
- Welchen Einfluss hat Endotoxin auf die Kontraktilität des Darms? Hierbei wird Endotoxin nach Induktion der Pankreatitis intraperitoneal verabreicht.
- Beeinflusst Endotoxin die Wirkung des NO-Antagonisten?

Die Kontraktilitätsmessungen werden *in vitro* mit einem 4-Kanal Organbad nach Schuler vorgenommen. Die Ileumpräparate sind 0,5 x 1 cm groß. Jede Kammer des Organbads ist mit 40ml einer Ringer-Lactat-Lösung gefüllt und wird zusätzlich mit Carbogen durchperlt. Durch einen externen Wasserkreislauf kann die Temperatur konstant auf 37°C gehalten werden. Die Durchführung der Versuche beinhaltet eine Vorspannung der Präparate auf etwa 0,5g und eine halbstündige Äquilibrationsphase. Danach wird Carbachol in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l dazugegeben und die Kontraktionen werden über einen Zeitraum von 10 Minuten registriert. Nach jeder Kontraktion wird das Carbachol mit Nährlösung gründlich ausgewaschen. Die dritte Kontraktion wird nach einer 15-minütigen Ruhephase durch eine Konzentration von $3,2 \times 10^{-7}$ mol/l ausgelöst. Nach Zugabe des L-NAG werden die Kräfte wieder über 10 Minuten registriert. Die Korrelation zwischen Tiergewicht und Kontraktionskraft wird mit dem Spearman-Rho-Test überprüft. Die Normalverteilungen der Werte werden mit dem Shapiro-Wilk-Test getestet. Mit dem t-Test werden die Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen nachgewiesen.

Die vorgelegte Studie zeigt, dass die akut-nekrotisierende Pankreatitis die Motilität des Darms negativ beeinflusst. Die Carbachol-induzierten Kontraktionen sind bei den ANP-Tieren signifikant vermindert (ANP: $1,30 \pm 0,19$ g; $1,37 \pm 0,32$ g; $0,85 \pm 0,23$ g vs Kontrolle: $1,70 \pm 0,36$ g; $1,98 \pm 0,40$ g; $1,20 \pm 0,38$ g). NO aktiviert die lösliche Guanylatcyclase, die daraufhin das intrazelluläre cGMP erhöht und über die Phospholipase C den IP₃-Mechanismus aktiviert. Letztendlich kommt es über diesen Mechanismus zur Relaxation der glatten Muskelzelle. Die Reduktion der Motilität kann einen Einfluss auf die Entstehung einer Sepsis haben, da die bakterielle Translokation darmständiger Bakterien und deren Bestandteilen begünstigt wird.

Die Studie kann zeigen, dass die Wirkung des l-Nitro-Arginins auf einer Steigerung der Kontraktilität des Darms beruht. Bei den ANP-Tieren wird eine Steigerung um 57% beobachtet (von $0,85 \pm 0,23\text{g}$ auf $1,34 \pm 0,39\text{g}$), bei den Kontrolltieren um 51% (von $1,20 \pm 0,38\text{g}$ auf $1,80 \pm 0,63\text{g}$). Der Mechanismus hierfür liegt wahrscheinlich in der kompetitiven Inhibition der NO-Synthase. Dabei tritt die Zunahme der Kontraktilität spontan innerhalb der ersten 2 Minuten nach Substanzzugabe ein. Im Gegensatz zu der Literatur, wo keine Angaben über die Dauer der Wirkung gemacht wird, kann in dieser Studie dieser Anstieg nur für wenige Minuten beobachtet werden. Der Mechanismus in dieser Kontraktilitätsabnahme kann darin liegen, dass für l-Nitro-Arginin auch ein muscarinerner Antagonismus beschrieben wird.

In dieser Studie wird nachgewiesen, dass die Lipopolysaccharide in der gewählten Dosis und Zeiteinheit keine weitere Verschlechterung der Motilität des Darms aufweisen (ANP: $1,30 \pm 0,19\text{g}$; $1,37 \pm 0,32\text{g}$; $0,85 \pm 0,23\text{g}$ vs ANP + LPS: $1,44 \pm 0,39\text{g}$; $1,56 \pm 0,48\text{g}$; $0,93 \pm 0,48\text{g}$ und Kontrolle: $1,70 \pm 0,36\text{g}$; $1,98 \pm 0,40\text{g}$; $1,20 \pm 0,38\text{g}$ vs Kontrolle + LPS: $1,88 \pm 0,34\text{g}$; $2,12 \pm 0,42\text{g}$; $1,45 \pm 0,50\text{g}$). Weiter wird nachgewiesen, dass die Lipopolysaccharide keinen Einfluss auf die Wirkung des NO-Antagonisten haben. (ANP + LPS: Steigerung um 46% von $0,93 \pm 0,48\text{g}$ auf $1,36 \pm 0,56\text{g}$; Kontrolltiere + LPS: Steigerung um 44% von $1,45 \pm 0,50\text{g}$ auf $2,09 \pm 0,42\text{g}$) Bei Zugabe von L-NAG zeigen sich dieselben Ergebnisse wie bei den Gruppen, in denen kein Endotoxin eingesetzt wird. Es kommt auch hier zu einer Kontraktilitätssteigerung mit nachfolgender Abnahme, wobei die Mechanismen gleich bleiben, die hierfür verantwortlich gemacht werden können.

Diese Untersuchungen machen deutlich, dass das Prinzip eines NO-Antagonisten die Kontraktilität des Darms bei einer akut-nekrotisierenden Pankreatitis verbessern kann. In der Klinik stellt die Besserung der Kontraktilitätsreduktion des Darms bei den entsprechenden Patienten einen möglichen Therapieansatz dar. Allerdings eignet sich dafür das l-Nitro-Arginin mit seiner kombinierten Wirkung aus NO-Antagonismus und muscarinernem Antagonismus nicht, da die Wirkung nach wenigen Minuten verloren geht.

LPS beeinträchtigt die Wirkung des l-Nitro-Arginins nicht.

