4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden Studien zur Pathophysiologie und Therapie des langsamen Kolontransits vorgestellt. Die pathophysiologischen Studien beziehen sich auf die Wirkung von Hormonen und Peptiden mit Beeinflussung des Wasserhaushaltes sowie auf morphometrische Befunde am enterischen Nervensystem. Die therapeutischen Studien befassen sich mit der Ballaststoff-Therapie und der neuen Behandlungsform mit probiotischen Bakterien (E. coli Nissle 1917).

Es gilt als allgemein anerkannt, dass diätetische Faktoren die Transitzeit beeinflussen. Dies trifft insbesondere für Ballaststoffe zu, deren tägliche Einnahme umgekehrt proportional zur Transitzeit steht[92{Burkitt, 1972 #300]. Inwieweit die täglich aufgenommene *Flüssigkeitsmenge* die Transitzeit beeinflusst ist weniger klar. Bereits geringe Veränderungen des Stuhl-Wassergehaltes führen zu vergleichsweise großen Veränderungen der Stuhlkonsistenz[93], was eine Beziehung zur Transitzeit nahe legt. Tatsächlich wird Obstipierten häufig geraten, die Trinkmenge zu steigern. Für diese Hypothese sprechen auch die Ergebnisse einer Studie, bei der Probanden, die einer Flüssigkeitsrestriktion unterzogen wurden, nach einer Woche signifikant weniger Stuhlgewicht und eine geringere Stuhlfrequenz hatten als Personen mit normaler Flüssigkeitszufuhr[55].

Bis dato gibt es allerdings nur 2 Studien, die den Effekt einer gesteigerten Trinkmenge auf obstipierte Patienten untersucht haben[94, 95]. Dabei fand eine Studie an Kindern keinen Effekt auf die Parameter der Kolonfunktion, wenn die tägliche Trinkmenge um mehr als 50% gesteigert wurde. Eine andere Studie fand einen geringen Effekt einer Einnahme von mindestens 2 l Magnesium- haltigen Mineralwasser auf Stuhlfrequenz und Laxantiengebrauch. Schließlich untersuchte eine Studie, ob die generelle

Empfehlung, zu Ballaststoffen extra Wasser einzunehmen wirksam sei. Dabei wurde kein Unterschied gefunden[57]. Außerdem unterscheiden sich Obstipierte und Nicht– Obstipierte Patienten nachweislich nicht signifikant bezüglich der täglichen Flüssigkeitszufuhr[33, 96] .

Die vorliegenden Studienergebnisse lassen den Schluss zu, dass zwar eine deutliche Flüssigkeitsrestriktion zu einer Veränderung der Kolonfunktion führen, dass allerdings umgekehrt Patienten, die unter Obstipation leiden und eine normale Flüssigkeitsaufnahme zeigen, nicht von einer vermehrten Flüssigkeitsaufnahme profitieren. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass der Magen-Darm-Trakt mit seinen bis zu 10 l täglich produzierter Flüssigkeit[57] umfassenden Regulationsmechanismen unterliegt, so dass die vergleichsweise geringen möglichen Variationen der täglichen Trinkmenge vermutlich unbedeutend für den Kolontransit sind. Da der Flüssigkeitshaushalt des menschlichen Organismus hormonell gesteuert wird, untersuchten wir deshalb die Hypothese, dass die Hormone, die beim Dursten eine Rolle spielen, einen Einfluss auf die Parameter der Kolonfunktion haben können.

In der vorliegenden Habilitationsschrift werden zwei eigene Arbeiten vorgestellt, die den Zusammenhang von Hormonen und Kolonmotilität untersuchen. In der ersten Arbeit wurden in einem Standardmodell (Rattenkolon in vitro) die Hormone Arginin- Vasopressin, Aldosteron und Angiotensin auf ihren Motilitäts- Effekt untersucht. Es wurden ein überwiegend muskulärer Stimulus (Carbacholstimulation) und ein überwiegend nervaler Stimulus (Stimulation im elektrischen Feld) verwendet. Dabei hatten die genannten Hormone in physiologischer Konzentration keinen nachweisbaren Effekt auf die Kolonmotilität der Ratte. Allerdings hatte Angiotensin II in supraphysiologischen Konzentrationen von 10^{-7} bis 3×10^{-6} M einen signifikanten stimulierenden Effekt auf die

muskuläre und nervale Stimulation. Dieser Effekt wurde weder durch Atropin noch durch die Inhibitoren TTX und L-NNA beeinflusst.

Somit hat Angiotensin II in systemischen Konzentrationen keinen Einfluss auf die Motilität des Rattenkolons in vitro, so dass der direkte muskuläre Effekt von systemisch zirkulierendem Angiotensin II von geringer Relevanz im Bezug auf die Regulation der kontraktilen Aktivität während des Durstens ist. Allerdings könnten supraphysiologische Konzentrationen von Angiotensin II innerhalb des enterischen Nervensystems die Kolonmotilität beeinflussen. Angiotensin II könnte somit als Neurotransmitter oder innerhalb eines lokalen Renin- Angiotensin- Systems die Kolonmotilität stimulieren.

In einer zweiten Studie an Probanden wurde der klinische Effekt von Arginin- Vasopressin auf die Parameter der Kolonfunktion untersucht. Wir untersuchten bei fünf gesunden männlichen Probanden den Effekt des Arginin- Vasopressins (ADH) in Serumspiegeln, wie sie etwa beim Dursten zu erwarten sind, auf die objektiven Parameter der Kolonfunktion. Es wurde eine einfach blinde randomisierte Studie durchgeführt. Vor der eigentliche Studie mussten die Probanden zwei Tage dursten (Trinkmenge <500 ml/d), um einen laborinternen Standard für die gewünschten ADH- Spiegel zu erhalten. Dann erhielten die Probanden für eine Woche eine kontinuierliche s.c. Infusion Arginin- Vasopressin in einer Dosis von 7,5 µg/d („Insulinpumpe“ Nordisk Infusor), als Placebo wurde reine 0,9% NaCl in der Kontroll- Woche verwendet. Die Trinkmenge war >2500 ml/d. Zielgrößen waren die Stuhlfrequenz, das Stuhlgewicht und die Kolontransitzeit röntgendichter Marker. Zusätzlich wurden das Urinvolumen, die ADH-Serum- Spiegel und die Ausscheidung von ADH im 24h-Urin (RIA) gemessen. Die Stuhlfrequenz (unter Placebo und ADH, Mittelwert±SEM 6,8±0,8 und 6,8±0,5 Defäkationen/W), das Stuhlgewicht (1402±175 und 1474±148 g/W) und die Kolontransitzeit (22,9±7,0 und 25,7±5,8 h) unterschieden sich in beiden Wochen nicht signifikant voneinander. Eine

statistische Analyse ergab, dass ein signifikantes Ergebnis der Studie durch den Einschluss der ursprünglich geplanten drei weiteren Probanden nicht zu erwarten war. Die Studie wurde deshalb abgebrochen. Die ADH-Serum- Spiegel und die ADH- Ausscheidung im 24h- Urin waren während der Veruminfusion viermal so hoch wie in der Kontrollwoche und etwa doppelt so hoch wie in der Durstwoche. Somit können die beim Dursten erhöhten ADH- Spiegel die Effekte des Durstens auf die Kolonfunktion nicht erklären.

Die eigenen Daten unterstützen somit die international publizierten Ergebnisse, indem sie keinen relevanten Effekt der genannten Hormone auf die Parameter der Kolonfunktion ergeben. Es ist nicht zu erwarten, dass sich Obstipierte und nicht Obstipierte in ihren Hormonspiegeln unterscheiden. Die Veränderungen der Kolonfunktion bei drastischer Flüssigkeitsrestriktion sind am ehesten auf die tatsächliche Verminderung der Flüssigkeitsausscheidung im Sinne einer erhöhten Resorption und nicht auf direkte die Motilität beeinflussende Effekte zurückzuführen. Als klinisches Fazit kann somit gezogen werden, dass Patienten mit Obstipation nicht angeschuldigt werden sollten, zu wenig zu trinken Auch sollten sie ihre Flüssigkeitsaufnahme nicht über das normale Maß hinaus steigern. Umgekehrt sollten selbstverständlich Patienten mit einem Flüssigkeitsdefizit, beispielsweise Patienten mit unzureichender Nahrungsaufnahme oder mit Fieber oder in heißen Gegenden, dieses ausgleichen.

Ein langsamer Kolontransit könnte außerdem durch eine intrinsische Störung des enterischen Nervensystems verursacht sein. Die Beschreibung von Fällen mit intestinaler neuronaler Dysplasie (IND) Typ B, einem pädiatrischen Krankheitsbild[71] mit Störung des Kolontransits, in Zusammenhang mit chronischen Obstipationsbeschwerden bei

Erwachsenen gab Anlass zu histologischen Untersuchungen des enterischen Nervensystems.
Zum einen wurden Rektumbiopsien von obstipierten Patienten mit langsamem Kolontransit und von 23 Kontrollpersonen untersucht. Die Strukturen des enterischen Nervensystems wurden mit Färbungen für S100 Protein, Acetylcholinesterase und Laktat- Dehydrogenase dargestellt. Die morphometrische Auswertung erfolgte anhand von quantitativen Parametern (mittlere und maximale Anzahl der Zellen pro Ganglion, Anzahl von Ganglien und Ganglienzellen pro mm^2 Submukosa, mittlerer und maximaler Durchmesser der Ganglienzellen, maximale Dicke der submukösen Nervenfasern und Anzahl der S100 positiven Zellen pro mm^2 Mukosa) und semiquantitativen Parametern (Dichte der submukösen Ganglien, heterotope Ganglienzellen, Anfärbbarkeit der Adventitia der submukösen Arterien, Dichte der Nervenfasern in der Submukosa und Lamina propria). Aus der Vielzahl der Parameter ergaben sich lediglich bei der Dicke der submukösen Nervenfasern und dem Vorkommen von heterotopen Ganglienzellen Unterschiede. Auch eine Diskriminanzanalyse und eine subjektive Klassifikation der Schnitte konnte Patienten von Kontrollen nicht suffizient unterscheiden. Die Existenz einer Erkrankung „intestinale neuronale Dysplasie“ beim Erwachsenen erscheint somit einerseits unwahrscheinlich. Andererseits scheinen Rektumbiopsien zur Klassifikation von Patienten mit langsamem Kolontransit, zumindest auf der Basis der beschriebenen Methode, nicht brauchbar.
Letztlich führten uns diese Ergebnisse zu der Schlussfolgerung, dass vor der Etablierung eines Krankheitsbildes aufgrund von morphometrischen Daten, wie bei der IND geschehen, Normalwerte etabliert werden müssen. Dies geschah in der folgenden Studie.

Dabei wurden von formalinfixierten Gewebeproben bzw. Resektaten immunhistochemisch gefärbte Schnittpräparate angefertigt und

anschließend morphometrisch untersucht. Nativ gewonnenes Material wurde zu Vergleichszwecken zusätzlich enzymhistochemisch gefärbt. Maximale und durchschnittliche Ganglien- und Ganglienzellzahlen sowie maximale Nerven- und maximale und durchschnittliche Ganglienzelldurchmesser wurden quantitativ bestimmt, Verteilung und Dichte von Nerven und Nervenfasern semiquantitativ. An transmuralen Gewebeproben wurde zwischen melanotischen und nicht melanotischen Fällen unterschieden. Melanose wurde als Hinweis auf einen langsamen Transit gewertet. Verglichen wurden melanotische und nicht melanotische Präparate von Operations- und Obduktionsfällen, ferner alle melanotischen und nicht melanotischen und alle Obduktions- und Operationspräparate. Zur Validierung der Messergebnisse wurden an aufeinander folgenden Schnitten immun- und enzymhistochemische (ACE-/ NSE- / S100-Färbung) Nachweisverfahren direkt miteinander verglichen. Der Bestimmung von potenten Unterscheidungsmerkmalen diente eine abschließend durchgeführte Diskriminanzanalyse.

Es ergaben sich folgende Ergebnisse: Beim Vergleich der nicht melanotischen und melanotischen Präparate von Operations- und Obduktionsfällen fiel ein Trend zu einem häufigeren Vorkommen von Ganglien mit mehr als 10 Ganglienzellen bei Resektaten auf. Melanotische und nicht melanotische Präparate waren signifikant unterschiedlich in der maximalen und durchschnittlichen Ganglienzellzahl pro Ganglion, im Auftreten von Ganglien mit mehr als 10 Ganglienzellen pro Millimeter Muscularis mucosae, der maximalen Dicke submuköser Nerven und fokal auffälligen Nervenfasern in der Lamina propria mucosae. Bei Operations- und Obduktionspräparaten ergaben sich ähnliche Ergebnisse. In Abweichung dazu lagen bei melanotischen Präparaten aber signifikant mehr dystope Ganglienzellen und auch dichtere Nervenfasern in der muscularis mucosae vor als bei nicht melanotischen. Diskriminanzanalytisch konnten anhand der maximalen Ganglienzellzahl pro Ganglion, der maximalen Dicke submuköser Nerven und der Häufigkeit

von großen Ganglien mit 15 und mehr Ganglienzellen 89 % aller melanotischen und nicht melanotischen Fälle voneinander unterschieden werden. Rechnerisch sind diese Parameter in 4 optimalen Biopsien in ausreichender Zahl anzutreffen. Unter dieser Voraussetzung wäre die Unterscheidung zwischen beiden Vergleichsgruppen auch durch bioptische Untersuchung möglich.

Unter diesem Aspekt kann vermutet werden, dass die Zahl (2) der Rektumbiopsien zur Untersuchung von Patienten mit langsamem Kolontransit in der eigenen Untersuchung zu niedrig gewählt war. Andererseits ist aber das Symptom "langsamer Kolontransit" morphologisch, pathologisch und funktionell uneinheitlich, so dass nicht erwartet werden kann - und durch die eigenen Befunde auch nicht belegt wird - dass diese Fälle morphologisch mehrheitlich einer IND Typ B entsprechen.

Die Kontroverse über die IND hält weiter an. Es wurden mittlerweile aus der Arbeitsgruppe des Erstbeschreibers diagnostische Kriterien publiziert, die deutlich strenger gefasst sind als die ursprünglich publizierten. Es wird nun herausgestellt, dass die Diagnose einer IND quantitativen Kriterien gehorchen muss und die Biopsien nach einer exakten Vorschrift (8 – 10 cm oberhalb der Linea dentata, exakt im rechten Winkel zur Schleimhaut-Oberfläche ausgerichtet, > 15% Riesenganglien) entnommen sein müssen[97]. Auch wird der Tatsache Rechnung getragen, dass das enterische Nervensystem eine verzögerte Ausreifung aufweisen kann. Somit dürfte sich die Zahl der falsch positiven Diagnosen einer IND reduzieren. Die Unsicherheit über die Existenz des Krankheitsbildes bei Erwachsenen bleibt letztlich immer noch bestehen. Auch neuere Arbeiten, die Rektumbiopsien bei Erwachsenen auswerten, kommen zu dem Schluss, dass der Plexus submucosus im menschlichen Anorektum segmentspezifische deutliche quantitative Unterschiede aufweist[98, 99]. Die

Entnahme von Rektumbiopsien zur Diagnose einer Dysganglionose bei chronischer Obstipation scheint nach wie vor klinisch wenig hilfreich. Eine endgültige Diagnose kann vermutlich nur durch die Gewinnung eines repräsentativen Op- Resektates gewonnen werden.

Ein weiteres Ziel unserer Studien war die Therapie des langsamen Transits. Deshalb sollte der Effekt einer Therapie mit Ballaststoffen bei Patienten mit verschiedenen, durch funktionelle Untersuchungsergebnisse definierten Untergruppen der chronischen Obstipation getestet werden. 149 konsekutive Patienten wurden über 6 Wochen mit 30g Plantago ovata Samenschalen pro Tag behandelt. Bei den Patienten wurde initial mit einem standardisierten Fragebogen eine nach Schweregrad aufschlüsselnde Symptomenerhebung, eine Kolontransitzeitbestimmung (röntgendichte Marker), eine funktionelle Proktoskopie, eine anorektale Manometrie und eine Defäkographie durchgeführt. 51 Patienten hatten einen verlangsamten Kolontransit, 46 Patienten eine Defäkationsstörung, 10 beides, 2 Medikamenten- induzierte Obstipation und 40 keinen fassbaren Befund. Nach 2 und 6 Wochen Behandlung wurde die Symptomanalyse wiederholt und der Effekt der Behandlung beurteilt: kein positiver Effekt (N=84), Symptome besser (N=33), Symptome weg (N=32). 41 der 51 Patienten (80 %) mit verlangsamtem Kolontransit, 29 der 46 Patienten (63 %) mit einer Defäkationsstörung und 8 der 10 Patienten (80 %) mit beidem hatten keinen positiven Effekt , während sich die Patienten ohne fassbare Störung unter Ballaststoffen besserten (6 von 40, 14 %) oder asymptomatisch (29 von 40, 73 %) wurden ($p<0,001$). Patienten mit einer definierten funktionellen Störung sprachen signifikant schlechter auf eine Therapie mit Ballaststoffen an als Patienten, bei denen auch mit funktionellen diagnostischen Methoden keine Störung gefunden werden kann.

Unsere Daten stützen die allgemein anerkannte Empfehlung, dass die Gabe von Ballaststoffen der erste Schritt bei der Therapie der chronischen

Obstipation sein sollte[100]. Die Transitzeit kann offensichtlich durch Ballaststoffmangel pathologisch verlängert sein. Allerdings bestätigen unsere Daten, dass es eine Subgruppe an Patienten mit einem langsamen Transit auch unter adäquater Ballaststofftherapie gibt. Diese sollten im eigentlichen Sinne als Patienten mit „langsamem Transit“ angesehen werden.

Insbesondere die Tatsache, dass Ballaststoffe aufgrund der intestinalen Gasentwicklung oft schlecht vertragen werden[89, 101], lässt die Suche nach neuen Therapieoptionen notwendig erscheinen.

Einen völlig neuen Therapieansatz stellen Probiotika dar. Zwei kontrollierte klinische Studien weisen auf einen motilitätsfördernden Effekt von E. coli Stamm Nissle 1917 bei Patienten mit chronischer Obstipation hin[80, 81].

Um den bisher unbekannten Mechanismus der Wirkung zu erforschen, wurde an einem etablierten in- vitro- Modell erstmals der Versuch unternommen, den Einfluss von E. coli Nissle 1917 auf die Motilität des Rattenkolons zu untersuchen. Dabei wurden isolierte Segmente von Kolon ascendens und Kolon descendens der Ratte in einem speziell konstruierten Organbad (s. Kap. 3.1) fixiert und mit Carbachol (kumulativ 10^{-7} Mol/l bis 3 x 10^{-5} Mol/l) bzw. im elektrischen Feld (3 pps und 10 pps, 1 ms Impulsdauer, 40 V) stimuliert. Der Einfluss von mit Bakterien bebrüteten und anschließend steril filtrierten Nährmedien auf die Kontraktionskraft der Darmsegmente wurde mittels Kraftwandler, Verstärker und einem Computer- System analog erfasst. Ausgewertet wurden die Maxima der Kontraktionsamplituden innerhalb von 2 Minuten nach Carbachol- Zugabe bzw. „off- contractions“ bei der Elektrostimulation. Als Kontrolle diente das ohne Bakterien bebrütete Nährmedium. Der Einfluss folgender fünf Variablen wurde getestet: Art des Segments (Kolon ascendens oder descendens), Art der Aufhängung im Organbad (longitudinal oder zirkulär), Wachstumsphase der Bakterien (logarithmisch oder stationär), Art des

Nährmediums (optimale oder minimale Nährstoffkonzentration) und Art des zugegebenen Mediums (Verum oder Kontrolle).

Aus der Vielzahl der Versuchsansatzvariationen wurden mit Hilfe einer Regressionsanalyse die Variablen ermittelt, die einen signifikanten Einfluss auf die Kontraktionsamplituden ausübten. Es fand sich stets ein signifikanter Unterschied für die Variablen „Art der Aufhängung“ und meist ein Unterschied für „Art des Kolonsegmentes“. Dagegen wiesen die Art des Nährmediums und die Art der bakteriellen Wachstumsphase keinen signifikanten Einfluss auf die Kontraktionsamplituden auf.

Für alle Stimulationsarten fand sich ein dosisabhängiger inhibitorischer Einfluss des Nährmediums. In den hohen Konzentrationen wurden dabei die Kontraktionsamplituden um 20 bis 30 % inhibiert. Wenn mit Bakterien bebrütete Nährmedien zugesetzt wurden, zeigte sich ein Trend zur Reduzierung bzw. Aufhebung dieser Inhibition. Im Kolon ascendens nach Carbachol- Stimulation sowie im Kolon descendens nach Elektrostimulation waren die Stimulationseffekte signifikant.

Die Zusammenschau der Ergebnisse lieferte erstmals Hinweise dafür, dass Bakterien durch ihre Stoffwechselaktivität die Motilität der Dickdarmwand beeinflussen können. Es werden Mechanismen diskutiert, die diesen Effekt erklären könnten. Denkbar sind aufgrund der vorliegenden Ergebnisse weniger die Verstoffwechslung von inhibitorischen Substanzen als vielmehr die Produktion von motilitätsfördernden Stoffwechselmetaboliten durch E. coli Stamm Nissle 1917.

Bis dato gibt es nur wenige klinische Studien, die sich mit dem Einfluss von Probiotika auf chronische Obstipation beschäftigen. Zu E. coli Nissle 1917 gibt es bislang nur die beiden o.g. randomisierten Studien. Aus therapeutischen Studien an Reizdarmpatienten geht hervor, dass noch weitere probiotische Bakterien zu einer Besserung von Obstipationsbeschwerden führen. Zu diesen gehören Lactobacillus casei Shirota[102], Streptococcus faecium[103] und Lactobacillus plantarum299V[104]. Allerdings müssen diese Studienergebnisse noch mit Vorsicht bewertet

werden, da sie überwiegend an kleinen Patientenkollektiven gewonnen wurden und der Plazebo– Effekt gerade bei Reizdarmpatienten erfahrungsgemäß hoch ist. Auch gibt es mittlerweile Studien, die keinen Effekt einer probiotischen Therapie finden konnten[105].

Da außerdem in keiner der Studien Transitzeitmessungen vorgenommen wurden, kann über einen Effekt auf die Obstipation mit langsamem Kolontransit nicht Stellung bezogen werden. Insgesamt unterstützen unsere Ergebnisse einen Einsatz von E. coli Nissle 1917 allen Formen der Obstipation bei Patienten, die Ballaststoffe nicht vertragen.