

## **1 Einleitung**

### **1.1 Akute Pankreatitis**

Der Begriff akute Pankreatitis beschreibt eine Vielzahl unterschiedlicher Entzündungsformen des exokrinen Pankreas, die sich hinsichtlich Klinik, Morphologie und Ätiologie unterscheiden. Viele pathogenetische Faktoren, die den Verlauf dieser Erkrankung beeinflussen, sind zum größten Teil noch unbekannt.

Bei der biliären Pankreatitis weiß man, daß sie durch obstruierende Steine im Papillenbereich ausgelöst wird. Durch die Abflußbehinderung des Pankreassekretes im Ductus pancreaticus ist die Ausschleusung der Pankreasproenzyme aus der Azinuszelle gestört. Die Folge ist eine intrapankreatische Aktivierung dieser Enzyme und somit Autodigestion des Pankreas [1].

Die Pathogenese der alkoholtoxischen Pankreatitis ist zurzeit noch weitgehend ungeklärt [2]. Eine mögliche Theorie ist, daß das Pankreas durch den Alkohol überstimuliert wird und gleichzeitig eine durch den Alkohol induzierte Obstruktion des Pankreasganges besteht [3]. Auch verschlechtert Alkohol die Durchblutung des Pankreas, so daß die Azinuszellen durch die verminderte Sauerstoffzufuhr geschädigt werden [3].

Die nekrotisierende Pankreatitis, welche z.B. als Komplikation nach schweren chirurgischen Eingriffen auftreten kann, wird unter anderem auf eine Ischämie des Pankreas zurückgeführt [4, 78].

Die Inzidenz der akuten Pankreatitis liegt bei etwa 17 Fällen jährlich pro 100.000 Einwohner [5]. Die klinischen Manifestationen reichen von einer leichten, sich selbst limitierenden Form bis zu einem Entzündungsprozeß, welcher mit schweren lokalen und systemischen Komplikationen verbunden ist. In etwa 90 % der Fälle kommt es zur Entwicklung der leichten Form, welche dem pathologischen Bild der akuten ödematösen Pankreatitis entspricht und zumeist ohne spezifische therapeutische Maßnahmen folgenlos ausheilt. Etwa 10 % der Patienten entwickeln die schwere Form der akuten Pankreatitis, entsprechend dem Bild der nekrotisierenden Pankreatitis. Bei diesen Fällen kommt es zu einer unkontrollierten Freisetzung von Mediatoren, z.B. Proteasen oder Kininen, welche zu schweren Pankreasnekrosen und bei Ausbreitung oftmals zu intra- und retroperitonealen Zellschäden führt. In der Frühphase dieser schweren Form der Pankreatitis ist die Letalität eher gering, was sich wohl auf die Fortschritte zurückführen läßt, welche in der Intensivmedizin in den letzten Jahren erzielt wurden. Bei etwa 40 % der Patienten mit akuter nekrotisierender Pankreatitis kommt es im Verlauf zu einer bakteriellen Superinfektion der Nekrosen [6].

Diese Patienten entwickeln in der Spätphase der Erkrankung schwere septische Komplikationen. Diese schwerwiegendste Komplikation der akuten Pankreatitis kann als „pankreatogene Sepsis“ bezeichnet werden und verursacht eine weitaus höhere Mortalität als die ähnlich schwere Form der akuten Pankreatitis mit jedoch sterilen Pankreasnekrosen [7, 8].

### **1.2 Sepsis (Definition und Pathogenese)**

Im Jahre 1914 definierte Schottmüller: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem kontinuierlich oder periodisch pathogene Bakterien in den Blutkreislauf gelangen und zwar derart, daß durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden“ [9]. Damals wurde der Begriff gleichgesetzt mit „streuender Infektion“, da man mikrobiologische Toxine für die Entstehung dieses Krankheitsbildes und seiner klinischen Symptome (Fieber, Tachykardie, Tachypnoe) verantwortlich machte.

Als entscheidendes pathogenetisches Prinzip der Sepsis wurde somit die Einschwemmung von Bakterien aus einem Sepsisherd (der „Infektion“) verstanden. Aus heutiger Sicht ist jedoch klar, daß nicht die Bakterien selbst für die Entwicklung des Organversagens entscheidend verantwortlich sind, sondern die übersteigerte Reaktion des Organismus auf die Infektion, welche sich in einer massiven Freisetzung von Entzündungsmediatoren äußert und letztendlich zum Multiorganversagen (MOV) führen kann [10].

Obwohl jedem Kliniker die einzelnen klinischen Symptome der Sepsis bekannt sind, fällt es schwer, die Patienten in eine Gruppe mit einheitlichem Krankheitsverlauf einzuordnen. Die Konsensus Konferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine widmete sich daher 1991 diesem Thema und definierte unter anderem den Begriff Sepsis durch Kombination von Einzelparametern. Die klare Definition der Begriffe Sepsis, SIRS, septischer Schock und MODS haben allgemeine Anerkennung gefunden (Abbildung 1 [11]).

Abbildung 1: Begriffsdefinitionen der Konsensus Konferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine [11]

**Sepsis**

Systemische Antwort auf eine Infektion. Die systemische Antwort manifestiert sich durch Erfüllung von zwei oder mehr der folgenden Bedingungen als Folge der Infektion:

- Temperatur  $> 38^{\circ}\text{C}$  oder  $< 36^{\circ}\text{C}$
- Herzfrequenz  $> 90/\text{min}$
- Atemfrequenz  $> 20/\text{min}$  oder  $\text{PaCO}_2 < 4,3 \text{ kPa}$
- Leukozyten  $> 12000/\text{mm}^3$ ,  $< 4000/\text{mm}^3$  oder  $> 10 \%$  unreife Vorstufen

**Systemic Inflammatory Response Syndrom (SIRS)**

Systemische Entzündungsreaktion als Antwort auf eine Vielzahl verschiedener starker klinischer Noxen. Die Antwort manifestiert sich durch Erfüllung von zwei oder mehr der folgenden Bedingungen:

- Temperatur  $> 38^{\circ}\text{C}$  oder  $< 36^{\circ}\text{C}$
- Herzfrequenz  $> 90/\text{min}$
- Atemfrequenz  $> 20/\text{min}$  oder  $\text{PaCO}_2 < 4,3 \text{ kPa}$
- Leukozyten  $> 12000/\text{mm}^3$ ,  $< 4000/\text{mm}^3$  oder  $> 10 \%$  unreife Vorstufen

**Septischer Schock**

Sepsis mit Hypotension trotz adäquater Volumengabe bei gleichzeitig bestehenden Perfusionsstörungen, die mit Laktatazidose, Oligurie oder einer akuten Veränderung des mentalen Status des Patienten einhergehen. Patienten, die mit inotropen Medikamenten oder Vasodilatoren behandelt sind, dürfen zum Zeitpunkt des Auftretens von Perfusionsstörungen keine Hypotension haben.

**Multiorgan dysfunction syndrome (MODS)**

Veränderte Organfunktion bei akut kranken Patienten, bei denen die Homöostase nicht ohne Intervention aufrecht zu erhalten ist.

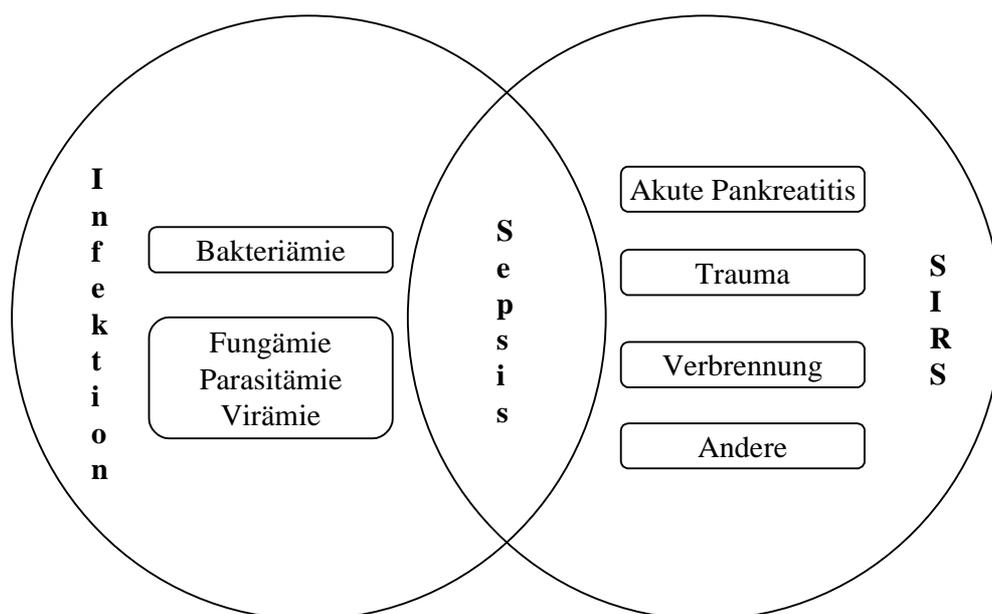
## 1 Einleitung

---

Sepsis wird somit als eine systemische Reaktion des Organismus auf eine Infektion verstanden, während das SIRS das allgemeine klinische Syndrom der Sepsis, unabhängig von einem Infektionsnachweis, beschreibt (Abbildung 2).

Wie oben bereits am Beispiel der Pankreatitis erwähnt, sind septische Krankheitszustände trotz Fortschritten in der Diagnostik und Intensivmedizin mit einer hohen Letalität belastet, wobei die Patienten in der Regel an einem irreversiblen Multiorganversagen (MOV) versterben. Das klinische Syndrom der Sepsis beschreibt eine Vielzahl von Dysfunktionen des Körpers, mit verschiedenen Ursachen und auch verschiedenen Prognosen. Die Veränderungen im Körper, die das Bild einer Sepsis hervorrufen, werden aus heutiger Sicht auf eine Vielzahl von Mediatoren zurückgeführt [13]. Überwinden Mikroorganismen oder deren Metabolite die Haut oder die Darmmukosa und ist der Körper durch versagende lokale Abwehrmechanismen infolge geschwächter Immunkompetenz nicht in der Lage, adäquat zu reagieren, resultiert eine Invasion der Bakterien und deren Zerfallsprodukten, den Endotoxinen, in die Blutbahn [10].

Abbildung 2: Die Beziehung zwischen der systemischen Entzündungsreaktion, der Sepsis und Infektion [12]



Von dort aus aktivieren die toxischen Bakterienprodukte die systemischen Abwehrmechanismen, und zwar sowohl die Plasmasysteme als auch die zellulären Systeme. Auch die überschießende Freisetzung von Sauerstoffradikalen und Stickstoffmonoxid, welche normalerweise bei der Steuerung von Entzündungsreaktionen positiv mitwirken, wird als Faktor bei der Entstehung der Sepsis diskutiert. Diese Reaktion führt laut Schönberg et al. zu Zell- und Gewebsschäden und über verschiedene Wege mit zum Multiorganversagen [14].

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt kann für das Endotoxin gramnegativer Bakterien, die Komplementfaktoren C3a und C5a, den Tumornekrosefaktor und Cyclooxygenasemetaboliten (Thromboxan und Prostaglandine) eine kausale Beteiligung bei der Sepsisentstehung als gesichert angesehen werden [10, 12].

### **1.3 Pankreatogene Sepsis**

Als pankreatogene Sepsis wird das klinische Bild der generalisierten Entzündungsreaktion infolge infizierter Pankreasnekrosen bezeichnet. Die Schwere der Pankreatitis wird einerseits durch das Ausmaß der Nekrosen bestimmt, andererseits durch deren sekundäre bakterielle Besiedlung. Beger et al. fanden bei Patienten mit bakteriell infizierten Nekrosen eine um den Faktor vier erhöhte Mortalität im Vergleich zu Patienten mit sterilen Nekrosen [15]. Diese Patienten entwickeln zumeist kardiale, pulmonale oder renale Komplikationen, welche letztendlich zum Multiorganversagen führen können. Die Faktoren, welche diesen Prozeß beeinflussen, sind zum Teil noch ungeklärt. Man geht, wie oben bereits erwähnt, davon aus, daß die überschießende Immunantwort des Organismus für die Entstehung des septischen Krankheitsbildes entscheidend verantwortlich ist. Hierbei scheint vor allem die initiale Enzymaktivierung für die Entwicklung und Prognose der akuten Pankreatitis eine entscheidende Rolle zu spielen [16].

Die Diagnose „Sepsis“ macht dann wenig Schwierigkeiten, wenn die Infektion durch einen nachzuweisenden Infektfokus bekannt ist (Katheterinfektion, Peritonitis, Abszeß, infizierte Wunde). Bei dem als pankreatogene Sepsis bezeichneten Krankheitsbild ist eine direkte Infektquelle jedoch nicht nachzuweisen. Die Diagnose einer Sepsis erfordert jedoch diesen Nachweis (siehe Konsensus Konferenz Abb. 1). Per definitionem wäre dieses Krankheitsbild somit nicht als Sepsis zu bezeichnen, sondern als systemische Entzündungsreaktion (systemic inflammatory response syndrom, kurz SIRS). Beger et al. wiesen bei ihren Untersuchungen

die Mikroorganismen aus den infizierten Pankreasnekrosen nach und fanden in den meisten Fällen gramnegative Bakterien der Darmflora, wie z.B. E. coli, aber auch grampositive Kokken [17]. 1990 induzierten Runkel et al. bei einer Beutelratte durch Ligatur des bilio-pankreatogenen Ausführungsganges eine schwere Pankreatitis [18]. Die intestinalen Lymphknoten, das RES und das Pankreas der Tiere wurden nach 2-4 Tagen untersucht, wobei eine hohe Rate an bakterieller Kontamination gefunden wurde. Bei den isolierten Bakterien handelte es sich auch hier überwiegend um typische Darmbakterien bzw. deren Metabolite. Weitere Forschungsgruppen kamen bei ihren Studien ebenfalls zu diesem Ergebnis [19- 21]. Aus diesen Erkenntnissen heraus wurde eine Hypothese entwickelt, welche den Darm als Infektquelle ins Zentrum weiterer Forschungen stellt.

#### **1.4 „Darm-Sepsis-Hypothese“**

Fine hatte als erster den Verdacht geäußert, daß der Darm ein endogener Bakterienpool und versteckter Infektherd sein kann [22]. Die Weiterentwicklung dieser Vermutung führte zu der Hypothese, daß der Darm als Reservoir fakultativ pathogener Keime unter bestimmten Umständen die Mediator-Kaskade aktivieren kann, die schließlich das klinische Syndrom der Sepsis verursacht. Die physiologische Darmflora ist beim gesunden Menschen ein System, welches sich im „steady-state“, im Gleichgewichtszustand, befindet. Die Regulation dieses Systems erfolgt durch Interaktion zwischen den Bakterienpopulationen, zwischen Wirt und Bakterien, durch Stoffwechselleistungen der Enterozyten und durch äußere Einflüsse wie Ernährung oder Medikamente. Die Mukosa stellt für große Moleküle und für Mikroorganismen eine physiologische Barriere dar. Unter normalen Umständen gelangen nur geringe Mengen an Bakterien oder deren Toxinen über die Mukosa in die Blutbahn. Unter pathologischen Bedingungen, wie etwa bei der akuten Pankreatitis, kommt es jedoch zu einem massiven Übertritt von Bakterien in extraintestinale Organe. Der Übertritt der Bakterien erfolgt einerseits direkt durch die Darmmukosa [23]. Andere mögliche Wege sind hämatogen oder auch lymphogen [24].

Die Vermutung, daß der Darm als Reservoir pathogener Keime eine entscheidende Rolle bei der Entstehung des septischen Krankheitsbildes bei der akuten Pankreatitis spielt, konnte in experimentellen Studien bestätigt werden [25]. Den Prozeß der extraintestinalen

Disseminierung von darmständigen Bakterien bzw. deren Bestandteilen (Toxinen) bezeichnet man als „bakterielle Translokation“ [26].

Dies gilt besonders für die Endotoxine, welche eine entscheidende Rolle im Verlauf septischer Krankheitsbilder spielen [27]. Endotoxine sind  $\alpha$ -Lipopolysaccharide, welche beim Zerfall gramnegativer Keime freigesetzt werden. Unter physiologischen Umständen gelangen nur geringe Mengen an Endotoxinen in die systemische Zirkulation. Erhöhte Werte im Serum lassen auf infektiöse Komplikationen schließen. Vermutlich kommt es durch Alteration der Darmmukosa zu einem Übertritt in Blut- und Lymphbahnen und somit in extraintestinale Organe. Die Leber, welche bei normaler Funktion in der Lage ist, vermehrt im Körper zirkulierende Endotoxine zu beseitigen, ist bei schwer kranken Patienten in ihrer Funktion eingeschränkt und somit nicht mehr fähig, ihrer Aufgabe nachzukommen. Auch führt die Stimulierung der zellulären Immunabwehr (Monozyten/Makrophagen) zur Freisetzung von Zytokinen und Entzündungsmediatoren. Die humoralen Abwehrsysteme, wie das Komplementsystem, das Kallikrein-Kinin-System und das Gerinnungssystem werden ebenfalls durch Endotoxine stimuliert und treten in Wechselwirkung mit den Mediatoren der zellulären Immunabwehr. Ein Überschießen dieser Reaktionen kann zu den klinischen Zeichen einer Sepsis führen und, falls es nicht gelingt, diesen Kreislauf zu modulieren, zum Multiorganversagen, zum hypodynamen Schock und schließlich zum Tod. Die zur Verfügung stehenden Mittel, den Weg zum Multiorganversagen zu verhindern, bestehen aus Intensivmedizin, antibiotischer Prophylaxe und, falls der Patient auf die konservative Therapie nicht anspricht, in der Erwägung chirurgischer Maßnahmen [23].

Die kausale Beziehung von Darm und Sepsis kommt in der englischsprachigen Literatur durch die Bezeichnungen „gut derived sepsis“, „gut origin sepsis“ oder „gut septic states“ zum Ausdruck [28]. Diese pathogenetischen Vorstellungen werden durch eine Reihe von experimentellen und klinischen Beobachtungen gestützt [29-31].

In der Literatur werden drei Hauptursachen der bakteriellen Translokation diskutiert [32]:

- Immunsuppression
- bakterielle Fehl- bzw. Überbesiedlung des Darmes
- Störungen der Barrierefunktion der Darmwand durch Mukosaschädigung

Das Augenmerk soll in der vorliegenden Arbeit besonders auf die Störung der Darmmukosabarriere bei der akuten Pankreatitis gelegt werden.

Diese Barrierestörung ist bei der akuten Pankreatitis, insbesondere bei der pankreatogenen Sepsis, von zentraler Bedeutung. Da der Darm, wie oben bereits beschrieben, eine Vielzahl pathogener Mikroorganismen enthält, ist es Aufgabe der Darmmukosa, diese Organismen innerhalb des Darmlumens zu kompartmentieren. Unter physiologischen Umständen ist dies auch der Fall. In Schockzuständen jedoch ist die Permeabilität der Darmwand für verschiedene Moleküle erhöht [33].

Diese Permeabilitätserhöhung führt zur Translokation von darmständigen Bakterien und Endotoxinen. Die möglichen Mechanismen, welche zu dieser Permeabilitätserhöhung mit nachfolgender bakterieller Translokation führen, sind bis heute nicht aufgeklärt. Als eine der Hauptursachen für die Störung der Integrität der Darmbarriere wird die Verletzung der Darmmukosa mit nachfolgendem Verlust der natürlichen Barrierefunktion und somit Störung der intestinalen Permeabilität diskutiert [34, 29]. In septischen Zuständen, so auch bei der pankreatogenen Sepsis, wird die Durchblutung zugunsten lebenswichtiger Organe, wie dem Herzen und dem Gehirn, verschoben. Als Folge dieser Verschiebung ist das Splanchnikusgebiet und somit die Darmmukosa nicht mehr ausreichend perfundiert. Dies ist an histologisch sichtbaren Ischämiezeichen erkennbar, welche zunächst an den Spitzen der Zotten und in zunehmendem Maße der Hyovolämie auch transmural nachweisbar sind [35]. Ist die Darmmukosa nicht mehr in der Lage, ihre Barrierefunktion wahrzunehmen, bricht das System zusammen, welches sich in einer erhöhten intestinalen Permeabilität mit nachfolgender bakterieller Translokation äußert.

Die intestinale Permeabilitätserhöhung bei der pankreatogenen Sepsis spielt eine bedeutende Rolle, genaue Kenntnisse über diesen Mechanismus der Sepsisentstehung sind erforderlich, um geeignete Therapiemodelle zu entwickeln.

### **1.5 Zielsetzung und Hypothese**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die morphologischen und funktionellen Veränderungen der Darmwand bei der experimentellen akuten Pankreatitis im Verlauf der ersten 24 h der Erkrankung zu charakterisieren.

Die Versuche vorliegender Arbeit konzentrieren sich dabei auf drei Gebiete:

1. Intestinale Permeabilität
2. Bakterielle Translokation
3. Morphologie der Dünndarmwand

Hierbei ergaben sich folgende Fragestellungen:

#### 1. Intestinale Permeabilität

Treten bei der akuten Pankreatitis intestinale Permeabilitätsveränderungen auf ?

Falls dies der Fall sein sollte, ist ein zeitlicher Verlauf erkennbar ?

#### 2. Bakterielle Translokation

Sind bei der akuten Pankreatitis erhöhte Endotoxinwerte in der systemischen Zirkulation feststellbar ?

Falls dies der Fall sein sollte, korrelieren diese mit den Permeabilitätsveränderungen, genauer gefragt: bedeutet erhöhte intestinale Permeabilität auch gleichzeitig erhöhte Endotoxinwerte im Blutkreislauf ?

#### 3. Histologie

Ergeben sich im Bereich des Darmes morphologische Veränderungen bei der akuten Pankreatitis ?

Falls dies der Fall sein sollte, korrelieren diese mit den Erkenntnissen aus Punkt 1 (Intestinale Permeabilität) und Punkt 2 (Bakterielle Translokation) ?

Im Rattenmodell der akuten Pankreatitis konnten Runkel et al. [18] schon nach 24h-48h Bakterien in mesenterialen Lymphknoten nachweisen. Die bakterielle Translokation ist also ein frühes Ereignis.

Die Hypothese dieser Arbeit lautet:

Die intestinale Permeabilität bei der akuten Pankreatitis ist schon innerhalb der ersten vierundzwanzig Stunden nach Beginn der Erkrankung gestört und geht somit zeitlich der bakteriellen Translokation voraus.

Zudem wird angenommen, daß das Ausmaß der Permeabilitätsstörung mit dem Ausmaß der Translokation korreliert.