

Aus der
Medizinischen Klinik und Poliklinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie,
Hepatology und Endokrinologie (Charité Campus Mitte)

der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dissertation

Über die Wirkung von Lipopolysacchariden auf die intakte und experimentell geschädigte humane Colonmucosa

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité –

Universitätsmedizin Berlin

von

Bastian Mayr

aus Mannheim

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. H. Lochs
 2. Prof. Dr. med. H.-G. Schulzke
 3. Prof. Dr. Dr. G. Rogler

Datum der Promotion: 14.06.2007

Datum der Zeugnisübergabe: 23.09.2007

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	9
1.1	Aufbau und Funktion des Magen-Darm-Traktes	9
1.1.1	Aufbau der Colonmucosa	10
1.1.2	Gastrointestinale Barriere und Permeabilität	11
1.2	Störungen der Barrierefunktion	14
1.3	Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen	15
1.3.1	Pathogenese der Chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen	16
1.3.2	Veränderungen der gastrointestinalen Barriere bei Chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen	19
1.4	Permeabilität und Sepsisentstehung	20
1.5	Lipopolysaccharide (LPS)	21
1.5.1	Vorkommen von LPS	21
1.5.2	Struktur der LPS	22
1.5.3	Biologische Wirkung der LPS	24
1.6	Barriereprotektive Substanzen	25
1.6.1	Transforming growth factor β 1 (TGF- β 1)	26
1.6.2	Diosmectit	26
1.7	Zielsetzung der Arbeit	27
1.7.1	Experimentelle Schädigung der Colonmucosa	27
1.7.2	Untersuchungen zur Wirkung von Lipopolysacchariden	28
1.7.3	Pilotversuche zur Untersuchung von barriereprotektiven Substanzen	28
2	MATERIAL UND METHODEN	29
2.1	Patientenkollektiv	29
2.1.1	Präparation des Gewebes	30
2.2	Kurzschlussstromtechnik nach Ussing	32
2.3	Versuchsaufbau	34
2.3.1	Die Messkammer	34
2.3.2	Der Wärmetauscher	35

2.3.3	Der Messplatz	38
2.4	Versuchsablauf	39
2.4.1	Vorbereitung	39
2.4.2	Zeitlicher Ablauf des Versuchs	39
2.4.3	Zugabe von Theophyllin	40
2.5	Getestete Substanzen	41
2.5.1	Exposition des Epithels mit Salzsäure (HCl)	41
2.5.2	Effekt von Lipopolysacchariden (LPS)	42
2.5.3	Effekt von LPS nach vorheriger Exposition mit HCl	42
2.5.4	Effekt von Barriereprotektiven Substanzen	43
2.6	Messung des pH-Wertes	44
2.7	Histologische Untersuchung	44
2.7.1	Herstellung der histologischen Präparate	44
2.7.2	Lichtmikroskopische Untersuchung und digitale Fotografie	45
2.8	Statistische Analyse	45
2.9	Verwendete Chemikalien	46
3	ERGEBNISSE	48
3.1	Exposition mit Salzsäure (HCl)	48
3.1.1	Zeitlicher Verlauf des Widerstandes	48
3.1.2	Zeitlicher Verlauf des Kurzschlussstromes (I_{sc})	52
3.1.3	Theophyllinantwort	56
3.1.4	pH-Wert der Badlösung	57
3.2	Morphologische Veränderungen nach Exposition mit HCl	59
3.2.1	Kontrollen	59
3.2.2	20 mmol/l HCl	60
3.2.3	25 mmol/l HCl	62
3.2.4	30 mmol/l HCl	63
3.2.5	35 mmol/l HCl	65
3.2.6	40 mmol/l HCl	66
3.2.7	45 mmol/l HCl	68
3.3	Wirkung von Lipopolysacchariden (LPS)	70
3.3.1	Effekt von LPS auf die intakte Mucosa	70

3.3.2	Effekt von LPS nach mucosaler Exposition mit 35 mmol/l HCl	72
3.4	Barriereprotektive Substanzen	74
3.4.1	Effekt von Transforming growth factor β 1 (TGF- β 1)	74
3.4.2	Effekt von Diosmectit	76
4	DISKUSSION	78
4.1	Methodenkritik	78
4.2	Experimentelles Schädigungsmodell	81
4.2.1	Experimentelle Schädigung durch mucosal gegebene Salzsäure	81
4.2.2	Dosis-Wirkungs-Beziehungen nach mucosaler Exposition mit HCl	82
4.2.3	Einordnung der eigenen Ergebnisse	85
4.3	Wirkung von LPS	85
4.3.1	Effekt an der intakten Mucosa	85
4.3.2	Effekt von LPS nach Schädigung mit HCl	88
4.4	Barriereprotektive Substanzen	89
4.4.1	Effekt von TGF- β 1	89
4.4.2	Effekt von Diosmectit	91
5	ZUSAMMENFASSUNG	92
6	LITERATURVERZEICHNIS	94
7	ANHANG	108

Abkürzungsverzeichnis

(pANCA)	perinukleärer antineutrophiler zytoplasmatischer Antikörper
CARD15	Caspase-activation recruitment domain 15
CED	Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen
CSF	Colony stimulating factor
CU	Colitis ulcerosa
D	Dalton
E.coli	Escherichia coli
EGF	Epithelial growth factor
FGF	Fibroblast growth factor
GALT	Gut associated lymphoid tissue
HCl	Salzsäure (Hydrochloric acid)
HRP	Horseradish peroxidase
IBD	Inflammatory bowel disease
IgA	Immunglobulin A
IGF	Insulin-like growth factor
IL	Interleukin
I_{sc}	Kurzschlussstrom (short-circuit current)
Kdo	2-Keto-3-desoxy-octonsäure
LBP	Lipopolysaccharide binding protein
LPS	Lipopolysaccharide
LTA	Lipoteichonsäure (lipoteichon acid)
NFκB	Nuclear factor κB

NOD2	Nucleotide oligomerization domain 2
NSAR	Nicht-steroidale Antirheumatika
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PGN	Peptidoglycan
r-LPS	rough Lipopolysaccharide
R _T	Transepithelialer Widerstand
SIRS	Systemic inflammation response syndrome
s-LPS	smooth Lipopolysaccharide
TGF-β1	Transforming growth factor β1
TLR	Toll-like receptor
TNF-α	Tumor necrosis factor α

7 Anhang

Danksagung

An erster Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. med. Herbert Lochs für die Überlassung des Themas sowie Frau Dr. rer. nat. Sabine Bühner für die Betreuung und Hilfestellung bei der Verfassung der vorliegenden Arbeit. Weiter gilt mein besonderer Dank Frau Anna-Maria Wenner und Frau Martina Werich für die pragmatische und unkomplizierte Hilfe bei der Arbeit im Labor sowie Herrn Dipl.-Phys. Dieter Heinze für die Unterstützung bei technischen Problemen aller Art.

Außerdem möchte ich Herrn Dr. med. Kaufmann, Frau Thews sowie Frau Petz aus dem Histochemischen Labor des Institutes für Pathologie (Dir. Prof. Dr. M. Dietel) für die Herstellung der mikroskopischen Schnittpräparate sowie Herrn Dr. med. Alexander Swidsinski und Frau Petra Schlien für die Unterstützung bei der digitalen Fotografie danken.

Weiterhin gilt mein Dank den Ärzten und Schwestern der Chirurgischen Klinik (Dir: Prof. Dr. J. Müller), den OP-Schwestern und den Mitarbeitern des pathologischen Schnellschnittlabors für die Hilfe bei der Entnahme der Untersuchungspräparate.

Herzlich danken möchte ich auch meinen Chefarzten und Lehrern Dr. med. H.P. Lemmens, Dr. med. Bernd Muzzolini, Dr. med. Herbert Pachowsky, Dr. med. Klaus Korfmann, Dr. med. N. Heinze, Dr. med. G. von Schöning und Herrn Dr. med. D. Ganzer für meine ärztliche Ausbildung und für das Verständnis für die Verfassung meiner Dissertationsschrift.

Großer Dank gilt allen meinen Freunden, die mich in den letzten Jahren mit viel Geduld, aufmerksamem Zuhören, technischer Unterstützung und vor allen Dingen mit viel Liebe begleitet haben. Besonders erwähnen möchte ich meine Geschwister Tilla und Lorenz sowie meine Schwägerin Steffi, die mir neben Jan Hülpusch und Daniel Porsdorf bei der Gestaltung der Abbildungen geholfen hat.

Und zu guter Letzt das größte Dankeschön an meine Eltern, die mir meine Ausbildung zum Arzt ermöglicht haben, mich immer wieder gefordert und gefördert haben und mich einfach immer in allen Lebenslagen unterstützt haben. Danke!

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht..

Erklärung

Ich, Bastian Mayr, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Über die Wirkung von Lipopolysacchariden auf die intakte und experimentell geschädigte humane Colonmucosa“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Datum

Unterschrift

Ein Teil der in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse wurde schon veröffentlicht.

Literaturangabe:

Bühner S, Mayr B, Bode H, Schmitz H, Schulzke JD, Fromm M, Lochs H.

Effects of endotoxin on human large intestine. Annals New York academy of sciences 2000;915:264-66.

Bühner S, Bode H, Mayr B, Schmitz H, Schulzke JD, Fromm M, Lochs H. Serosal lipopolysaccharide stimulates ion secretion via a cyclooxygenase dependent mechanism in the human distal colon. (Zur Publikation eingereicht 2006)