

1 Einleitung

1.1 Aufbau und Funktion des Magen-Darm-Traktes

Die Hauptaufgabe des Magen-Darm-Traktes besteht in der Aufnahme, Spaltung und Resorption der für den Körper lebensnotwendigen Nährstoffe, Elektrolyte und Wasser.

Die Nahrung wird durch den Mund aufgenommen und über die Speiseröhre in den Magen transportiert. Im Magen wird der Speisebrei durch Salzsäure und Pepsin auf einen pH von 2-3 angesäuert und zersetzt. Nach einer Verweildauer von 1 bis 5 Stunden erfolgt der Weitertransport in den Dünndarm, wo durch eine weitere Freisetzung von Bikarbonat und Enzymen durch die Bauchspeicheldrüse und die Gallenblase eine Alkalisierung und enzymatische Spaltung der einzelnen Nahrungsbestandteile bewirkt wird und somit die Resorption der gespaltenen Kohlenhydrate, Proteine und Fette durch die Darmschleimhaut ermöglicht wird. Nach der Passage durch den Dünndarm wird der Chymus im Dickdarm durch Resorption von Wasser und Elektrolyten eingedickt und durch den Enddarm als Faeces ausgeschieden (Vaupel, 2001).

Neben der Verdauung und Resorption von Nährstoffen erfüllt der Magen-Darm-Trakt noch eine weitere wichtige Funktion: den Schutz des Organismus vor dem Eindringen von in der Nahrung enthaltenen Noxen und Antigenen sowie die Aufrechterhaltung eines stabilen inneren Milieus gegenüber der Umwelt (Schulzke und Fromm 1994).

Der Dünndarm besitzt bei einer Länge von etwa 3,75 m in vivo in tonisiertem Zustand eine absorbierende Fläche von ca. 200 m² (Thews und Vaupel 2001), insgesamt beträgt die Länge des Gastrointestinaltraktes in relaxiertem Zustand (post mortem) ca. 9 m (Saladin 2001), die Gesamtoberfläche des Magen-Darm-Traktes entspricht in ungefähr der Größe eines Tennisplatzes („double-size tennis court“, Silverthorn 2001), was ca. 260 m² entspricht.

Bei dieser enormen Kontaktfläche mit der Umgebung kommt der Darmmucosa eine wichtige Bedeutung in der Abwehr von in der Umwelt vorhandenen Mikroorganismen und exogenen Noxen zu. Hierzu verfügt der Gastrointestinaltrakt über verschiedene Mechanismen: Einerseits wird die Absorption von mit der Nahrung aufgenommenen Antigenen begrenzt durch unspezifische Schutzmaßnahmen wie die proteindenaturierende Wirkung der Salzsäure im Magen, enzymatische Spaltung durch

Proteasen, Mucussekretion sowie die darmeigene Peristaltik (Walker 1986), andererseits verfügt der Gastrointestinaltrakt über ein spezifisches Immunsystem, das so genannte GALT (gut-associated lymphoid tissue) (Mayrhofer 1984). Die aus dem Darmlumen eingedrungenen Antigene werden über M-Zellen in die Peyer-Plaques und Lymphfollikel aufgenommen, dort werden sie B- und T-Zellen des Immunsystems präsentiert. Die so stimulierten Lymphozyten gelangen zunächst aus der Mucosa in die mesenterialen Lymphknoten und in den Ductus thoracicus, nach ihrer Differenzierung (Homing) wandern sie zurück in die Lamina propria mucosae. In der Mucosa üben diese speziell differenzierten Zellen dann gemeinsam mit intraepithelialen Lymphozyten Effektorfunktionen aus und sind direkt an der Abwehr von Antigenen beteiligt (Stallmach und Zeitz 1999). Von wesentlicher Bedeutung für die darmspezifische Immunabwehr sind die von Zellen des intestinalen Immunsystems freigesetzten Zytokine. Sie sind sowohl an der Entstehung von Entzündungen wie auch an der Regulation der Immunantwort beteiligt (Wittig und Zeitz 2001).

Weiterhin bewirkt das Epithel des Magen-Darm-Traktes eine Trennung zwischen lumenalem und serosalem Kompartiment und dient somit als Barriere zwischen im Darmlumen vorhandenen Antigenen und dem spezifischen Immunsystem der Darmmucosa. Es verhindert die Passage von potentiell pathogenen Substanzen aus dem Darmlumen in das Körperinnere und reguliert die Aufnahme und Abgabe von Wasser und Elektrolyten.

Die Aufrechterhaltung dieser Barriere zwischen Organismus und Umgebung wird als epitheliale Barrierefunktion des Gastrointestinaltraktes (syn. Gastrointestinale Barrierefunktion) bezeichnet.

1.1.1 Aufbau der Colonmucosa

Die Darmwand des Colon ist vergleichbar mit den anderen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes vierschichtig aufgebaut: dem Darmlumen zugewandt ist die Tunica mucosa, die durch die Lamina muscularis mucosae von der Tela submucosa abgegrenzt wird. Die Tunica muscularis besteht aus glatter Muskulatur und dient der Darmperistaltik, als äußerste Schicht grenzt die Tunica serosa an (s. auch Abb.3, Abschnitt 2.1.1).

Die Mucosa des Colon besteht aus einem einreihigen hochprismatischen Epithel, von der Dünndarmmucosa unterscheidet sie sich durch das vollständige Fehlen von Zotten. Auffällig ist im histologischen Schnittbild die Ausprägung von Lieberkühn'schen Krypten, die etwa 0,5 mm tief sind und bis zur Lamina muscularis mucosae reichen. Zwischen den Krypten liegt die Lamina propria mucosae, die neben Bindegewebe auch Zellen des Immunsystems wie Lymphozyten, Makrophagen und Plasmazellen enthält (Weiss 1988). Das Epithel kleidet die Krypten und die Öffnungen der Krypten zum Darmlumen (epitheliale Oberfläche) aus und besteht neben resorbierenden Mucosazellen (Enterozyten) aus mucusbildenden Becherzellen und vereinzelt enteroendokrinen Zellen (Junqueira und Carneiro 2005). Die Krypten können entsprechend ihrer Funktion in 3 Abschnitte unterteilt werden: die im luminalen Drittel befindlichen Zellen grenzen die Mucosa vom Darmlumen ab, sie bilden eine dichte Barriere, im mittleren Drittel befinden sich hauptsächlich sezernierende Zellen sowie mäßig differenzierte Enterozyten, im serosalen Drittel, bzw. in der Tiefe (Fundus) der Krypten erscheint das Epithel unregelmäßiger hinsichtlich der Zahl und der Anordnung der Zellen. Das Fundusepithel hat hauptsächlich proliferative Funktion, dort findet durch Mitosen die Neubildung und Differenzierung der Epithelzellen statt. Die dort neu gebildeten Zellen wandern entlang der Krypten zur Oberfläche und werden dort abgestoßen. Somit findet eine kontinuierliche Regeneration der Mucosa statt. (Ross et al. 1995).

1.1.2 Gastrointestinale Barriere und Permeabilität

Die epitheliale Barriere setzt sich zusammen aus einem extrinsischen und einem intrinsischen Anteil. Die extrinsische oder präepitheliale Komponente, auch als unstirred water layer („nicht bewegte Schicht“) bezeichnet, besteht aus Mucus, Bicarbonat und Immunglobulinen und wirkt als Diffusionsbarriere (Lennernäs 1998). Das darin enthaltene IgA dient der unspezifischen Immunabwehr, es reduziert die Adsorption von Antigenen und neutralisiert ein breites Spektrum von Viren (Kilian et al. 1988). Weiterhin werden von den Epithelzellen antimikrobielle Peptide exprimiert und in das Darmlumen abgegeben. Diese so genannten Defensine haften an der Außenwand des Erregers an, zerstören die bakterielle Membran und führen damit zur Abtötung des Erregers (Schmid et al. 2004).

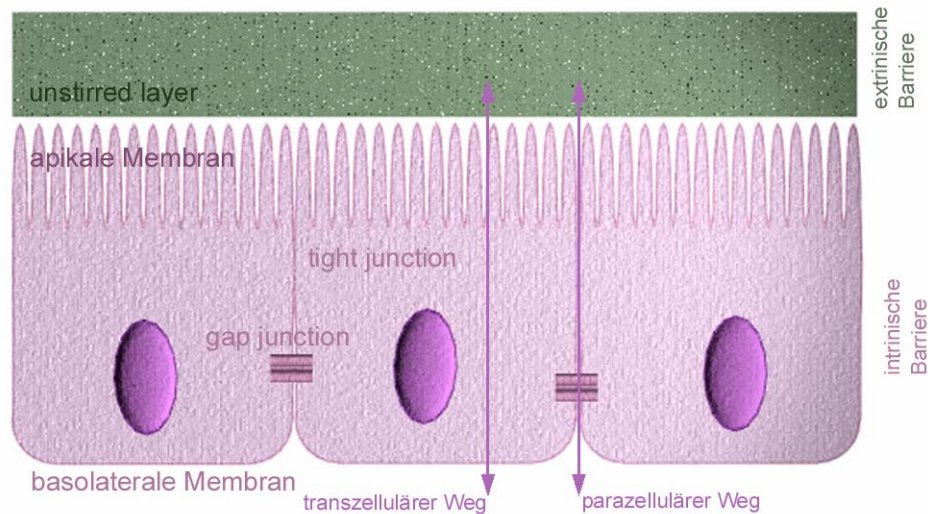


Abb. 1: Schematische Darstellung der epithelialen Barriere (nach Menzies 1972)

Der intrinsische oder intraepitheliale Anteil bildet die eigentliche Permeabilitätsbarriere zwischen Lumen und serosaler Seite des Epithels. Er besteht aus den einreihig flächenhaft angeordneten Epithelzellen und den Interzellularspalten (siehe Abb.1). Die Interzellularspalten werden seitlich von den lateralen Zellmembranen begrenzt, die beiden benachbarten Zellen werden über Desmosomen (intermediate junctions) und über gap junctions (Konnexone) mechanisch zusammengehalten. Auf der apikalen Seite wird der Interzellularspalt durch den Schlussleistenkomplex (syn. tight junction, zonula occludens) begrenzt (Cereijido 1991).

Der Transport durch das Epithel in serosaler wie auch in mucosaler Richtung findet sowohl durch die Epithelzellen (transzellulärer Weg) als auch durch die Interzellularspalten (parazellulärer Weg) statt. Auf dem transzellulären Weg erfolgt ein vorwiegend aktiver Transport von Ionen und niedermolekularen Substanzen, der durch substanzspezifische Membranproteine (Carrier und Kanäle) vermittelt ist. Der parazelluläre Stofftransport ist dagegen passiv, er ist abhängig von elektrochemischen Gradienten und von der Durchlässigkeit des Schlussleistenkomplexes (Argenzio 1984).

Die tight junctions bestehen aus aneinander gereihten Makromolekülen, die mit der lateralen Zellmembran benachbarter Epithelzellen und deren Zytoskelett verbunden sind. Die Durchlässigkeit der tight junctions kann über diese Verknüpfung mit dem Zytoskelett reguliert werden (Madara 1987). Somit kann die Diffusion von Soluten über den parazellulären Weg effektiv angepasst werden.

Der Begriff Permeabilität bezeichnet nach Bjarnason et al. (1995) die Eigenschaft einer Membran, einen gelösten Stoff (Solut) mittels passiver Diffusion durchtreten zu lassen. Die Menge und Geschwindigkeit des diffundierenden Solutes wird einerseits durch Aufbau, elektrische Ladung, Dicke und Struktur der Membran, andererseits durch Molekülgröße, Ladung und Löslichkeit der Substanz sowie durch die Interaktion des Solutes mit der Lösungsflüssigkeit („solvent“) begrenzt (Bjarnason et al. 1995).

Das Verhältnis von parazellulärer zu transzellulärer Permeabilität bestimmt die Leckheit bzw. Dichtheit des Epithels (Fromm und Hierholzer 1997). Man unterscheidet nach Powell (1981) in leaky (lecke), moderately leaky beziehungsweise moderately tight (mäßig lecke bzw. mitteldichte) und tight (dichte) Epithelien.

Lecke Epithelien besitzen eine hohe parazelluläre Permeabilität und ermöglichen dadurch hohe transepitheliale Transportraten. Aufgrund ihrer geringen Dichtheit sind sie jedoch nicht in der Lage, große Konzentrationsgradienten aufrechtzuerhalten. Ihre Aufgabe liegt hauptsächlich im Stoffaustausch sowie in der Sekretion und Resorption von Wasser, Elektrolyten und Substraten. Beispiele für lecke Epithelien sind die Epithelien von Dünndarm, Gallenblase, Speicheldrüsen und des Pankreas.

Mitteldichte Epithelien, bzw. mäßig lecke Epithelien transportieren weniger, können dafür jedoch besser Gradienten zwischen zwei Kompartimenten aufbauen und erhalten. Sie dienen einerseits dem Stoffaustausch und der aktiven Resorption von Wasser und Elektrolyten, andererseits verhindern sie eine passive Diffusion von Soluten aus dem Körperinneren in die Umgebung. Definitionsgemäß ist die transzelluläre Permeabilität gleich groß oder größer als die parazelluläre Permeabilität. Zu den mitteldichten Epithelien gehören das Colon und Rectum sowie die distalen Nierentubuli.

Dichte Epithelien (Epidermis, Harnblase) zeichnen sich durch eine sehr geringe Transportrate sowie eine sehr hohe Dichtheit aus. Ihre Aufgabe liegt hauptsächlich in der Speicherung von Flüssigkeiten bzw. in der Aufrechterhaltung der Barriere

gegenüber der Umwelt. Sie verfügen über eine sehr geringe Permeabilität, der transepitheliale Transport erfolgt fast ausschließlich auf dem transzellulären Weg.

Die Permeabilität der epithelialen Schlussleisten nimmt im Magen-Darm-Trakt von proximal nach distal ab. Im Jejunum und Ileum ist die epitheliale Barriere wesentlich durchlässiger als im Colon und Rectum. Man bezeichnet daher das Epithel des Dünndarmes als leckes Epithel, das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Dickdarmepithel wird den mitteldichten Epithelien zugeordnet.

Der dänische Physiologe Hans Ussing beschrieb 1951 gemeinsam mit K. Zerahn (Ussing und Zerahn 1951) eine Methode zur Untersuchung der Transporteigenschaften von Epithelien. Mit diesem Modell ist es möglich, die elektrophysiologischen Gewebeeigenschaften und Ionenfluxe (Transportraten) von isolierten Epithelien in vitro zu untersuchen (s. auch Abschnitt 2.2).

Der im Ussing-Experiment gemessene Widerstand ist ein Parameter zur Bestimmung der Barriereigenschaften eines Epithels. Als Maß für die Dichtigkeit des Epithels dient der transepitheliale elektrische Widerstand R_T . Je höher der gemessene Widerstand ist, desto höher ist die Dichtigkeit, bzw. desto geringer ist die Permeabilität des untersuchten Epithelgewebes.

Der Widerstand ist im Jejunum beim Menschen mit ca. $25 \Omega \cdot \text{cm}^2$ relativ niedrig, das Epithel des humanen Colon besitzt mit $100\text{-}200 \Omega \cdot \text{cm}^2$ einen mittelhohen epithelialen Widerstand (Vaupel 2001). Die Harnblase des Frosches als Beispiel für ein dichtes Epithel hat einen transepithelialen Widerstand von $4500 \Omega \cdot \text{cm}^2$ (Lewis et al. 1975).

1.2 Störungen der Barrierefunktion

Bei zahlreichen Erkrankungen ist in den letzten Jahrzehnten eine veränderte intestinale Permeabilität als Folge einer epithelialen Barriestörung diskutiert worden. So sind in der Literatur unter anderem Permeabilitätsstörungen bei CED (s.1.3), Zöliakie (Bjarnason und Peters 1984, Cobden et al. 1978, Menzies 1972, Vogelsang et al. 2001), Nahrungsmittelallergien (Jackson et al. 1981, Bühner et al. 2004), HIV-Enteropathie (Kapembwa et al. 1991, Ott et al. 1991) sowie bei Anwendung von zytotoxischen Medikamenten wie 5-Fluoruracil (Silber et al. 1980) im Rahmen der

Therapie des Colocarzinoms und bei Methotrexat (Lifschitz und Mahoney 1989) beschrieben worden. Ähnliche Veränderungen der epithelialen Barriere wurden bei ionisierender Strahlung und bei Hyperthermie (Coltart et al. 1988) gefunden. Weiterhin konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) eine Permeabilitätssteigerung der Schleimhaut bewirken (Bjarnason et al. 1993, Krugliak et al. 1990, Jenkins et al. 1991).

Bei allen genannten Studien handelt es sich um klinische Studien, das heisst, um in-vivo-Studien. Die Bestimmung der intestinalen Permeabilität in vivo beruht auf dem Grundprinzip, dem Probanden eine möglichst biochemisch inerte Testsubstanz oral zu verabreichen und anschließend die Konzentration dieser Substanz im Urin zu bestimmen (Fink 2002). Die im Sammelurin gemessene Konzentration der Testsubstanz ist dabei proportional zur Transportrate aus dem Darmlumen ins Plasma. Als Marker werden Substanzen verwendet, die unter normalen Bedingungen die Darmmucosa nur in geringen Mengen durchdringen können. Häufig verwendete Testsubstanzen sind unter anderen Polyethylenglykol 400, Mannitol, Rhamnose, Lactulose, Cellobiose sowie das radioaktive ⁵¹Cr-EDTA (Hollander 1992).

Der Transportweg durch die epitheliale Barriere ist nicht vollständig geklärt, es wird jedoch vermutet, dass ein kleiner Teil des Transportes transzellulär erfolgt, wohingegen der weit größere Teil durch passive Diffusion auf dem parazellulären Weg über die tight junctions erfolgt (Tomita et al. 2000).

Exemplarisch für das Bild einer gestörten gastrointestinalen Barrierefunktion sollen in der vorliegenden Arbeit Permeabilitätsstörungen bei Chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und bei der Entstehung von Sepsis näher betrachtet werden.

1.3 Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

Unter dem Begriff Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) werden die bislang in ihrer Ätiologie unklaren Erkrankungen Morbus Crohn (Ileitis terminalis, Enteritis regionalis) und Colitis ulcerosa (CU) zusammengefasst. Während bei M. Crohn alle Wandschichten von der chronischen Entzündung befallen sind, es sich somit um eine transmurale Entzündung handelt, sind bei Colitis ulcerosa nur die Mucosa, d.h. das Epithel sowie die Submucosa betroffen. Weiterhin unterscheiden sich beide

Erkrankungen durch die Lokalisation der betroffenen Darmabschnitte: bei M. Crohn ist in den meisten Fällen das terminale Ileum sowie das Colon befallen, es kann jedoch zu einer Entzündung des gesamten Darmes mit fibrotischer Wandverdickung, Stenosierung sowie Abszess- und Fistelbildung in die Umgebung führen. Die Colitis ulcerosa beginnt in der Regel im Rektum und breitet sich nach proximal aus, eine Ausbreitung bis in den Dünndarm wird selten beobachtet. Gemeinsam ist beiden Erkrankungen das Leitsymptom der Diarrhöe: Bei CU werden bis zu 20 blutig-schleimige Durchfälle pro Tag beobachtet, bei M. Crohn sind die Durchfälle weniger häufig (3-6/Tag) und seltener blutig (Stein et al. 1999 [1] und [2]).

1.3.1 Pathogenese der Chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Neben genetischen Faktoren, Umwelt- und psychosozialen Faktoren, einer Autoimmungenese, mikrobiellen Einflüssen wird auch die Bedeutung der epithelialen Barriere für die Pathogenese der CED diskutiert. Das klinische Bild der chronisch rezidivierenden Entzündung legt die Vermutung nahe, dass die gemeinsame Endstrecke in der Pathogenese durch eine fortlaufende Aktivierung des mucosalen Immunsystems bewirkt wird, wobei die Auslösung und Unterhaltung eines Krankheitsschubes mit dem Vorhandensein von bakteriellen Antigenen im Darmlumen assoziiert wird.

Die Hypothese der **genetischen Prädisposition** wird gestützt durch mehrere epidemiologische Untersuchungen. So konnte sowohl eine familiäre Häufung von CED (Orholm et al. 1991), ein erhöhtes Risiko für Verwandte 1. Grades, an einer CED zu erkranken (Orholm et al. 1999) als auch eine hohe Konkordanz bei monozygoten Zwillingen bezüglich des Auftretens von CED gezeigt werden (Tysk et al. 1988). Hugot et al. fanden 1996 durch genetische Untersuchungen bei Familien mit vermehrter Inzidenz von M. Crohn Hinweise auf Mutationen des Genlocus IBD1 auf dem Chromosom 16. Weitergehende Untersuchungen identifizierten schließlich mehrere durch Mutationen bedingte Varianten von IBD1 auf Chromosom 16 (Hugot et al. 2001, Ogura et al. 2001), die vermutlich in engem Zusammenhang mit dem Auftreten von M. Crohn stehen. Dabei handelt es sich um Mutationen des Genes *NOD2*, bzw. *CARD15*, welches das intrazelluläre Protein NOD2 (Nucleotide oligomerization domain, nach neuer Nomenklatur *CARD15*) kodiert. *CARD15*-Protein (Caspase-activation and

recruitment domain) ist ein von Monozyten exprimiertes Protein, seine Funktion besteht in der Erkennung von toxisch wirksamen bakteriellen Zellwandbestandteilen wie z.B. Peptidoglycan (Philpott and Girardin 2004) sowie in der nachfolgenden Aktivierung des Transkriptionsfaktors NFκB (Buning et al. 2004, Halme et al. 2004). Nuclear factor κB spielt eine zentrale Rolle in der Regulation von pro-inflammatorischen Zytokinen wie u.a. Interleukin (IL)-1β, IL-10 und TNF-α bei CED (Schreiber et al. 1998, Halme et al. 2004). Obwohl in genetisch-epidemiologischen Studien (Orholm et al. 1993, Kuster et al. 1989) kein Mendelscher Erbgang festgestellt werden konnte, spricht doch einiges für die Hypothese, dass neben den oben beschriebenen Mutationen von *CARD15* wahrscheinlich mehrere genetische Faktoren an verschiedenen chromosomalen Lokalisationen an der Entstehung der CED beteiligt sind.

Bezüglich der **Autoimmungnese** der CED lassen eine Koinzidenz mit anderen Autoimmunerkrankungen wie Thyreoiden, Diabetes mellitus und perniziöser Anämie sowie der Nachweis von Autoantikörpern die Hypothese zu, dass es sich bei der CU um eine Autoimmunerkrankung handelt. So konnten neben perinukleären antineutrophilen zytoplasmatischen Antikörpern (pANCA) auch spezifische, gegen die Darmschleimhaut gerichtete IgG-Antikörper nachgewiesen werden (Stein 1999 [2]). Dies würde die Hypothese einer überschießenden Immunreaktion auf die natürliche Darmflora sowie auf die Darmmucosa bestätigen.

Weiterhin wurde der Zusammenhang von **psychischen Faktoren** auf die Pathogenese der CED untersucht. Mehrere Studien konnten zeigen, dass psychischer Stress ein auslösender Faktor für eine Colitis (Herbert und Cohen 1993, Qiu et al. 1999), bzw. für einen erneuten Schub einer vorbestehenden CU sein kann (Levenstein et al. 2000). Die pathogenetische Bedeutung von psychischem und physischem Stress auf die epitheliale Barriere wurde auch von Söderholm und Perdue 2001 beschrieben.

Hinsichtlich der **Umweltfaktoren** konnte in Untersuchungen gezeigt werden, dass Rauchen ein zusätzlicher Risikofaktor für die Entstehung sowie den Verlauf des M. Crohn ist (Cosnes et al. 2001). Für den Verlauf der CU konnte die gleiche Arbeitsgruppe in einer weiteren Untersuchung jedoch einen protektiven Effekt durch den Genuss von Nikotin nachweisen (Beaugerie et al. 2001).

Von großer Bedeutung für Manifestation und den Remissionsverlauf der CED ist die

bakterielle Besiedlung des Darmes. Unter physiologischen Bedingungen ist der Dickdarm von einer natürlichen bakteriellen Flora besiedelt (Simon und Gorbach 1984), die Konzentration beträgt etwa 10^{12} Bakterien pro Gramm Faeces. Somit ist die intestinale Mucosa kontinuierlich einer sehr hohen Zahl von potentiellen Antigenen ausgesetzt. Swidsinski et al. (2002) konnten bei Patienten mit CED eine im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe deutlich erhöhte Anzahl von Bakterien in der Mucosa nachweisen. Bei geringeren Bakterienkonzentrationen zeigte sich lediglich eine Anlagerung der Keime an die Mucosa, bei Biopsien mit hohen Erregerkonzentrationen konnten auch innerhalb der Lamina propria mucosae Bakterien festgestellt werden, was für eine Translokation unter den Bedingungen der chronischen Entzündung spricht. Bezüglich der Zusammensetzung der Bakterienflora konnten Swidsinski et al. keinen Unterschied zur Kontrollgruppe finden. Weiterhin konnte durch Duchmann et al. (1995) gezeigt werden, dass die unter physiologischen Bedingungen üblicherweise bestehende Toleranz des intestinalen Immunsystems gegenüber der darmeigenen Darmflora bei Vorliegen einer CED aufgehoben ist und es zu einer vermehrten Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen durch Zellen des intestinalen Immunsystems kommt. Für die Bedeutung von mikrobiellen Faktoren für die Entstehung und Chronifizierung der CED spricht auch die Beobachtung, dass bei operativer Ausschaltung eines von M. Crohn befallenen Darmareals durch Anlage eines Anus praeter eine Spontanremission im ausgeschalteten Darmabschnitt erfolgt. Nach Rückverlagerung des Ileostomas konnte ein erneuter Befall der Mucosa nachgewiesen werden (Shanahan 2000).

Zusammenfassend erscheint es für die Pathogenese der CED wahrscheinlich, dass ausgehend von einer individuellen genetischen Prädisposition zusätzliche Faktoren wie psychosoziale und Umweltfaktoren sowie unter Umständen das Vorliegen von Autoantikörpern ursächlich für die Entstehung der Erkrankung sind. Der weitere Verlauf der Erkrankung ist geprägt durch die perpetuierende Immunreaktion der Darmmucosa mit vermehrter Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen und morphologisch nachweisbaren Veränderungen der betroffenen Darmabschnitte. Bei der Unterhaltung dieser chronisch-rezidivierenden Entzündungsreaktion stellen bakterielle Antigene im Darmlumen wahrscheinlich ein pathologisches Agens dar.

1.3.2 Veränderungen der gastrointestinalen Barriere bei Chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Eine Erhöhung der intestinalen Permeabilität bei CED wurde in zahlreichen klinischen Untersuchungen am Menschen in vivo beschrieben (Ukabam et al. 1983, Hollander et al. 1986, Püspök et al. 1998). Dabei konnte für M. Crohn gezeigt werden, dass im Verlauf der Erkrankung eine erhöhte intestinale Permeabilität einer Phase mit gesteigerter Aktivität der Erkrankung („relapse“) vorausgehen kann (Wyatt et al. 1993).

Wie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, wird bei Verwandten von an CED Erkrankten eine genetische Prädisposition vermutet. Analog dazu stellte sich die Frage, ob bei dieser Gruppe auch eine primäre Veränderung der Permeabilität besteht. In mehreren Arbeiten wurde eine Erhöhung der Permeabilität bei nicht an CED erkrankten Verwandten 1. Grades von Patienten mit einer aktiven CED beschrieben (Hollander et al. 1986, Katz et al. 1989, Teahon et al. 1992, Bühner et al. 2005). Basierend auf dieser Beobachtung wurde von mehreren Autoren (Hollander et al. 1986, Ma et al. 1990) die Hypothese einer primären Barrierestörung bei M. Crohn erstellt.

Thomas Y. Ma (1997) definierte diese Hypothese („leaky gut hypothesis“) näher: Bei M. Crohn handele es sich um eine primäre Störung der intestinalen Permeabilität. Als Ergebnis dieser durch einen primären genetischen Defekt der intestinalen Barrierefunktion verursachten Permeabilitätsstörung komme es zum Phänomen des so genannten „leaky gut“, das heißt zu einer Bildung von Lecks in der intestinalen Barriere. Als Folge einer geschädigten Barriere könnten luminale Antigene, die unter normalen Bedingungen die Darmwand nicht durchwandern, vermehrt durch die intestinale Barriere durchtreten („intestinal penetration“) und eine intestinale Entzündungsreaktion hervorrufen (Ma 1997).

Eine gesteigerte intestinale Permeabilität könnte jedoch ebenso ein sekundär im Krankheitsverlauf auftretendes Phänomen darstellen, das durch die chronische Entzündungsreaktion der Mucosa bei CED hervorgerufen wird. Die Frage der Kausalität (primäre vs. sekundäre Barrierestörung) konnte bislang nicht beantwortet werden.

Hinsichtlich der Pathogenese der Colitis ulcerosa führten Schmitz et al. in vitro Untersuchungen durch. Die Autoren untersuchten die Colonmucosa bei Colitis ulcerosa hinsichtlich der Barrierefunktion und der Struktur der tight junctions. In

elektrophysiologischen Messungen konnten sie einen Abfall des transepithelialen Widerstandes um 50 % bei CU sowie eine elektronenmikroskopisch sichtbare Veränderung der Struktur der tight junctions feststellen (Schmitz et al. 1999). Aus diesen Ergebnissen schlossen die Autoren, dass es bei der CU infolge der Entzündung zu einer gestörten Barrierefunktion mit der Ausbildung von epithelialen Lecks kommt. Die bei CU begleitend auftretenden Diarrhöen führten die Autoren auf einen Leck-Flux-bedingten Mechanismus zurück. Das Konzept der gestörten epithelialen Barrierefunktion mit der Ausbildung von epithelialen Lecks bei CU wurde in weiteren Arbeiten der Arbeitsgruppe um M. Fromm und J.-D. Schulzke beschrieben (Schmitz et al. 2000, Gitter et al. 2001).

Offen bleibt die Frage, ob die bei CED auftretende Barrierestörung neben einem vermehrten Übertritt von Wasser und Elektrolyten in das Darmlumen auch zu einem Transfer von Substanzen, z. B. intraluminalen Antigenen durch das geschädigte Epithel führen kann.

1.4 Permeabilität und Sepsisentstehung

Nach einer Konsensuskonferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine von 1991 sind Bakteriämie und Sepsis folgendermaßen definiert: bei Vorhandensein vitaler Bakterien im Blut liegt eine Bakteriämie vor, die Sepsis ist eine systemische Reaktion auf eine Infektion mit Vorliegen von 2 oder mehr der folgenden Symptome: a) Körpertemperatur $>38^{\circ}\text{C}$ oder $<36^{\circ}\text{C}$, b) Herzfrequenz $>90/\text{min}$, c) Atemfrequenz $>20/\text{min}$ oder $\text{paCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$ und Leukozyten $>12.000/\text{mm}^3$ oder $<4.000/\text{mm}^3$ oder $>10\%$ unreife Neutrophile (Bone et al. 1992).

Liegen die oben genannten Kriterien ohne Nachweis eines Infektionsherdes vor, spricht man von einem SIRS (systemic inflammatory response syndrome). Bei einer zusätzlichen Organdysfunktion wird der Begriff schwere Sepsis verwendet, bei einem sehr schweren Verlauf einer Sepsis bzw. eines SIRS kann es zu einem septischen Schock sowie zu einem vital bedrohlichen Versagen mehrerer Organsysteme, dem so genannten Multiorganversagen (MOV) kommen (Bone et al. 1992).

Bei der bakteriellen Sepsis liegt zunächst ein lokalisierter Infektionsherd vor. Im

weiteren Verlauf kommt es zur Invasion der Bakterien und ihrer Toxine in die Blutbahn und damit zu einer Bakteriämie. Als zusätzliche Risikofaktoren gelten eine reduzierte Abwehrlage nach Polytraumata, großen chirurgischen Eingriffen und ausgedehnten Verbrennungen. Prinzipiell kommen als Eintrittspforten für eine bakterielle Invasion alle Körperoberflächen in Betracht. Neben iatrogenen Schädigung der Haut z.B. bei zentralvenösen Kathetern und nachfolgender katheterassoziierter Infektion kann auch die alveoläre Oberfläche der Lunge bei intubierten und beatmeten Patienten zur Eintrittspforte von Bakterien werden. Kontrovers diskutiert wurde in den letzten Jahrzehnten die Translokation von Bakterien und Endotoxinen aus dem Darm als mögliche Ursache der Entstehung der gramnegativen Sepsis.

So wurde in den letzten Jahren vor allem von E.A. Deitch und R. Berg die Translokation von Bakterien aus dem Darmlumen ins Blut untersucht. In tierexperimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass sowohl durch einen hämorrhagischen Schock (Baker et al. 1988, Deitch und Bridges 1987) als auch durch eine Endotoxinämie (Deitch et al. 1987) eine vermehrte Translokation von Bakterien aus dem Darmlumen bewirkt wird. Deitch führte diesen Effekt auf eine gesteigerte Permeabilität der Mucosa zurück (Deitch et al. 1990). Ebenso konnte in klinischen Studien bei Patienten mit Verbrennungen eine gesteigerte Permeabilität nachgewiesen werden (Ziegler et al. 1988).

Diese Untersuchungen stützen die Hypothese, dass bei Patienten mit einer Sepsis bakterielle Antigene aus dem Darmlumen entweder bei der Entstehung und/oder bei der Unterhaltung der generalisierten Infektion beteiligt sind. Ursächlich für die Translokation der Antigene scheint eine gesteigerte Permeabilität aufgrund der geminderten vaskulären Perfusion der Mucosa zu sein. Die reduzierte Durchblutung der Mucosa führt vermutlich zu einer Schädigung der intestinalen Barriere mit vermehrter Durchlässigkeit der tight junctions (Deitch et al. 1987).

1.5 Lipopolysaccharide (LPS)

1.5.1 Vorkommen von LPS

Der Begriff Endotoxin wird zurückgeführt auf R. Pfeiffer. Pfeiffer konnte 1892 beobachten, dass Lysate gramnegativer Bakterien bei Versuchstieren Fieber und

Schockzustände hervorriefen. Da Pfeiffer davon ausging, dass das dafür ursächliche Toxin nicht wie die Exotoxine von der Zelle sezerniert wurde, sondern sich innerhalb der Zelle befand und nur beim Absterben des Bakteriums freigesetzt wurde, nannte er es Endotoxin (Pfeiffer 1892). 1943 konnten Shear und Turner eine toxische Substanz bei gramnegativen Bakterien (*Serratia marcescens*) isolieren und von seiner chemischen Struktur her definieren als Lipopolysaccharid. Die Arbeitsgruppe von M.J. Shear untersuchte in weiteren Studien die chemische Struktur und die biologische Wirkung des von ihnen gefundenen Polysaccharides (Hartwell et al. 1943) und verwendete später den Begriff Endotoxin als Synonym für die Lipopolysaccharide (Skarnes et al. 1958).

Heute gilt als gesichert, dass es sich bei dem von Pfeiffer beschriebenen Endotoxin um ein Lipopolysaccharid handelt. Lipopolysaccharide sind Zellwandbestandteile von gramnegativen Bakterien und werden bei deren Zerfall freigesetzt. Zu dieser Gruppe von Bakterien gehören unterer anderen *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Helicobacter pylori*, *Chlamydia trachomatis*, *Salmonella typhi* sowie *Escherichia coli*. *E. coli* gehört zu den Enterobakterien und ist ein wichtiger Bestandteil der physiologischen Darmflora des Menschen. Bei der großen Anzahl von Bakterien im menschlichen Dickdarm (10^{12} Bakterien pro Gramm Faeces) beträgt die gemessene LPS-Konzentration im Faeces bei gesunden Personen etwa 1 mg/g (van Saene et al. 1996). In den Begriffen Coli-Sepsis sowie Coli-Enteritis spiegelt sich die pathogene Bedeutung von *E. coli*. Tatsächlich wurde *E. coli* als auslösender Erreger bei über 50% der gramnegativen Bakteriämien identifiziert (Hynninen et al. 1995).

1.5.2 Struktur der LPS

Lipopolysaccharide sind die Bestandteile der äußeren Zellwand gramnegativer Bakterien. LPS bestehen grundsätzlich aus 2 Komponenten: dem Lipid A sowie dem Polysaccharidanteil, der wiederum in die 3 Regionen innerer Kern, äußerer Kern sowie der O-spezifischen Seitenkette (O-Antigen) unterteilt ist (Raetz 1990). Die strukturelle Variabilität der LPS nimmt von innen nach außen zu (Wilkinson 1996), das heißt, das außen befindliche O-Antigen zeigt bei unterschiedlichen Bakterienspezies starke Unterschiede und ermöglicht die Differenzierung verschiedener Serotypen (Rietschel et al. 1993). Die Expression des O-Antigens kann auch vollständig unterdrückt sein. Fehlt

das O-Antigen, spricht man von rough-LPS (R-LPS). LPS mit vorhandenem O-Antigen werden als smooth-LPS bezeichnet (Raetz 1990).

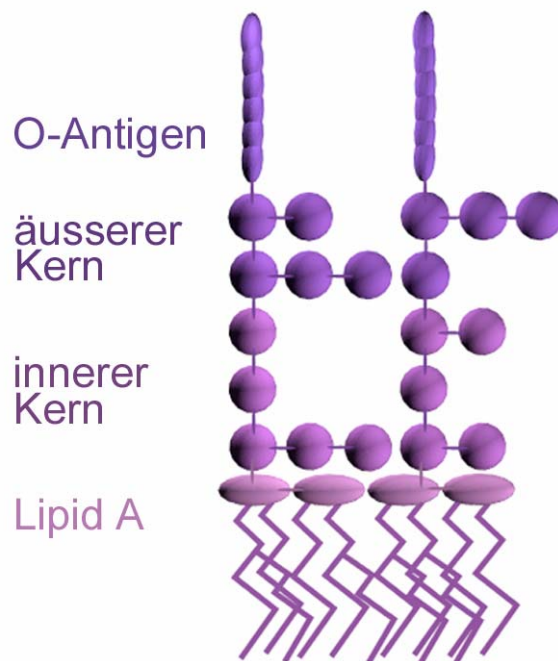


Abb. 2: Schematische Darstellung eines enterobakteriellen Lipopolysaccharids (modifizierte Darstellung nach Kastowsky et al. 1992).

LPS besteht aus einem nach außen weisenden Zuckeranteil und dem in der Bakterienmembran verankerten Lipid A. Der Polysaccharidanteil besteht aus dem inneren und äußeren Kern sowie dem O-Antigen. Lipid A bestimmt die pathophysiologischen Eigenschaften des Lipopolysaccharids.

Der sich an das O-Antigen anschließende innere und äußere Kern ist strukturell weniger variabel, bei den meisten gramnegativen Bakterien ist das Kernpolysaccharid gleichartig aufgebaut. Im inneren Kern befindet sich neben L-Glycero-D-mannio-Heptose auch 2-Keto-3-desoxy-octonsäure (Kdo). Kdo tritt nahezu ausschließlich bei LPS auf (Rietschel et al. 1993) und ist für die Funktion der äußeren Zellmembran unerlässlich (Raetz 1990). Das amphiphile Molekül Lipid A verankert das Lipopolysaccharid in der bakteriellen Zellmembran. Es besteht aus einem hydrophilen Kopfteil sowie aus einem hydrophoben, aus mittel- bis langkettigen Fettsäuren bestehenden Teil. Der hydrophile Anteil bildet das aus einem β 1-6 verknüpften Glucosamin-Disaccharid bestehende Grundgerüst, an das 4 3-Hydroxy-Fettsäureketten gebunden sind. An diese Fettsäureketten können noch weitere Hydroxy-Fettsäuren gebunden sein (Raetz 1990).

Über Lipid A werden die meisten pathophysiologischen Effekte ausgelöst (Loppnow et al. 1986), daher wird es nach Rietschel et al. (1994) als das endotoxische Prinzip des LPS bezeichnet.

1.5.3 Biologische Wirkung der LPS

Klinisch zeigen sich bei gramnegativen bakteriellen Infektionen Symptome wie Fieber, Blutdruckabfall, Durchfall sowie Veränderungen der Leukozytenzahlen. Einige dieser Symptome konnten nach Injektion von Endotoxin bei Versuchstieren beobachtet werden (Robert and Rao 1996). Diese klinischen Auswirkungen werden nicht direkt durch die toxische Wirkung der LPS verursacht, das beim Zerfall der gramnegativen Bakterien freigesetzte LPS hat vielmehr eine Signalfunktion für das Immunsystem und dient als Trigger für die nachfolgende pathophysiologische Kaskade (Ulevitch und Tobias 1999).

Von besonderer Bedeutung ist dabei die Bindung von LPS an spezifische Plasmaproteine: Minimale Konzentrationen von LPS sind in Verbindung mit LBP (lipopolysaccharide-binding protein) und CD14 in der Lage, die Zellen des Immunsystems zu einer vermehrten Freisetzung von Entzündungsmediatoren zu veranlassen. Es wird vermutet, dass LPS zunächst von LBP gebunden wird, der so entstandene LPS/LBP-Komplex wird im Plasma vorhandenem s(soluble)CD14 sowie membranständigem mCD14 präsentiert und so an die Monozyten/Makrophagen gebunden (Ulevitch und Tobias 1999). Da CD14 entweder in gelöster Form im Plasma oder als membranständiger Rezeptor vorliegt, postulierten Ulevitch und Tobias das Vorhandensein eines transmembranären Co-Rezeptors, der das einkommende, durch LPS/LBP vermittelte Signal an das Zellinnere weitergibt. Über den intrazellulären Transmitter NFκB kommt es schließlich zu einer vermehrten Expression und Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen. Yang et al. konnten 1998 zeigen, dass LPS und LBP alleine keinen Effekt zeigten. Bei Vorhandensein von toll-like receptor (TLR) bewirkte LPS gemeinsam mit LBP und CD14 eine messbare vermehrte Expression von NFκB in den Immunozyten. Daraus folgerten Yang et al., dass für die Wirkung von LPS die Bindung an LBP sowie an CD14 nötig ist und dass TLR2 als Transmembranprotein die Signaltransduktion in das Zytoplasma bewirkt (Yang et al. 1998). Schwandner et al. konnten 1999 zeigen, dass TLR2 nach Exposition der Zellen

mit Peptidoglykan (PGN) und Lipoteichonsäure (LTA) zu einer vermehrten Freisetzung von NFκB führt. PGN und LTA sind Zellwandbestandteile von grampositiven Bakterien und bewirken vergleichbar mit LPS eine Aktivierung des Immunsystems (Schwandner et al. 1999). Neuere Ergebnisse zeigten, dass nicht TLR 2, sondern eher TLR4, ein anderes Mitglied der Familie der Toll-like receptors, als Signalprotein für Lipopolysaccharide dient (Heine et al. 2001). Somit erscheint es wahrscheinlich, dass der Gruppe der Toll-like receptors und besonders TLR2 und TLR4 eine wichtige Bedeutung bei der durch bakterielle Toxine ausgelösten Immunreaktion zukommt.

1.6 Barriereprotektive Substanzen

Das Epithel des Gastrointestinaltraktes befindet sich in einem ständigen Erneuerungsprozess. Durch Abschilferung des Oberflächenepithels, Absterben der Enterozyten sowie durch mechanische und chemische Verletzungen der epithelialen Oberfläche kommt es fortlaufend zu substanzialen Defekten der gastrointestinalen Barriere. Um diese „Löcher“ zu stopfen, verfügt die Mucosa über 2 parallel nebeneinander verlaufende Erneuerungsmechanismen: Zellregeneration und Zellmigration (engl. epithelial restitution). Die Regeneration des Epithels erfolgt durch Proliferation von Epithelzellen. In den Krypten befinden sich proliferierende Epithelzellen, die während der Durchwanderung von der Kryptentiefe zur Epitheloberfläche einen Differenzierungsprozess durchlaufen. Nach diesem Reifungsprozess bilden diese differenzierten Epithelzellen das erneuerte Oberflächenepithel. Dieser Reifungsprozess dauert zwischen 12-24 Stunden (Lipkin et al. 1992). Weitaus schneller erfolgt die Reparatur von Barrieredefekten durch Zellmigration. Dabei wandern benachbarte Epithelzellen in Richtung des Defektes und bilden dort durch Vernetzung eine intakte epitheliale Oberfläche. Der Prozess der Zellmigration beseitigt einen Defekt je nach Größe innerhalb von Minuten bis Stunden (Fink 1992).

Bei der Modulation von Erneuerungsprozessen spielen Wachstumsfaktoren eine wichtige Rolle. Wachstumsfaktoren werden von Epithelzellen sowie von immunkompetenten Zellen der Lamina propria gebildet. Sie üben ihre wachstumsmodulierenden Eigenschaften über spezifische Oberflächenrezeptoren der jeweiligen Zielzellen (Epithel- und Endothelzellen, Fibroblasten, Immunozyten,

Makrophagen/Monozyten) aus. Die Wachstumsfaktoren werden aufgrund ihrer strukturellen und funktionellen Eigenschaften in verschiedene Familien unterteilt: neben epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factor (IGF), fibroblast growth factor (FGF), colony stimulating factors (CSF's), trefoil factors gibt es unter anderen Faktoren auch die Familie der transforming growth factors (TGF α und TGF β) (Dignass 1996).

1.6.1 Transforming growth factor β 1 (TGF- β 1)

TGF- β 1 ist ein Peptid mit einem Molekulargewicht von 25 000 Dalton, das von intestinalen Epithelzellen und von verschiedenen Zellpopulationen der Lamina propria exprimiert wird (Massagué 1990, Suemori et al. 1991). TGF- β 1 bewirkt am intestinalen Epithel eine Hemmung der Zellproliferation und eine Stimulation der Zellmigration (Kurokawa et al. 1987). In weiteren Untersuchungen (Ciacci et al. 1993, Dignass und Podolsky 1993) konnte der Effekt von TGF- β 1 durch Stimulation der Zellmigration auf die Wiederherstellung der intestinalen Barriere nach mechanischer Verletzung der Mucosa bestätigt werden.

Planchon et al. (1994) untersuchten die Wirkung von TGF- β 1 auf epitheliale monolayer im In-vitro-Modell nach Ussing. Eine durch Exposition mit IFN- γ , einem von Lymphozyten freigesetzten Zytokin, verursachte Schädigung der epithelialen Barriere konnte durch Zugabe von TGF- β 1 vollständig wiederhergestellt werden.

1.6.2 Diosmectit

Diosmectit (Diocahedrales Smectit) ist ein in der Natur vorkommendes, biologisch inertes Silikat, das aus 2 übereinander liegenden oktahedralen Aluminiummagnesiumschichten besteht (Albengres et al. 1985). Diosmectit bildet stabile Bindungen mit Glykoproteinen und stabilisiert dadurch den Schleimfilm der Mucosa (Schlitter und Ebenezer 1988). Weiterhin besitzt Diosmectit eine hohe Adsorptionskapazität für Viren, Bakterien, mukolytische Enzyme und bakterielle Toxine (Brouillard und Rateau 1989, Droy-Lefaix et al. 1985)

In klinischen Untersuchungen an Kindern, die Symptome einer Diarrhöe zeigten, konnte ein positiver Effekt von oral gegebenem Diosmectit auf die Krankheitsdauer, die

Frequenz der täglichen Stühle und den Gewichtsverlust während der Erkrankung nachgewiesen werden (Madkour et al. 1993, Vivatvakin et al. 1992). Weiterhin konnten Dupont et al. 1992 zeigen, dass die orale Gabe von Diosmectit eine Normalisierung der Permeabilität für Mannit und Lactulose bei an akuter Diarrhöe erkrankten Kindern bewirkt. Mahraoui et al. (1997) untersuchten die Wirkung von Diosmectit auf humane monoklonale Epithelzellkulturen („epithelial monolayers“) im Ussing-Modell nach vorheriger Schädigung durch Tumor-necrosis-factor- α (TNF- α), einem von Zellen des Immunsystems freigesetzten Zytokin. Dabei konnten sie zeigen, dass Diosmectit die durch TNF- α induzierte Störung der epithelialen Barriere vollständig wiederherstellte.

Diese Untersuchungen legen die Vermutung nahe, dass eine vorbestehende Störung der epithelialen Barriere durch Diosmectit verringert, bzw. vollständig aufgehoben werden kann.

1.7 Zielsetzung der Arbeit

1.7.1 Experimentelle Schädigung der Colonmucosa

Um Störungen der epithelialen Barriere untersuchen zu können, ist die Entwicklung eines experimentellen Schädigungsmodells von großem Interesse. In der vorliegenden Arbeit verfolgten wir den Ansatz, durch einmalige Exposition mit Salzsäure eine messbare, im weiteren zeitlichen Verlauf jedoch reversible Schädigung der intakten Colonmucosa hervorzurufen.

Hieraus ergab sich der erste Teil der Fragestellung für die vorliegende Arbeit:

Kann man durch Zugabe von Salzsäure (HCl) experimentell eine Schädigung der intestinalen Barriere hervorrufen?

In welcher Konzentration bewirkt auf der mucosalen Seite hinzugegebene Salzsäure (HCl) eine Schädigung des humanen Colonepithels, und wie wirkt sich diese Schädigung im Ussing-Modell auf die elektrophysiologischen Parameter Widerstand und Kurzschlussstrom aus?

Bei welcher Konzentration von HCl zeigt sich während des Messzeitraumes eine Regeneration des untersuchten Epithels?

Ist im histologischen Schnittpräparat eine morphologische Veränderung nach Zugabe von HCl nachweisbar?

1.7.2 Untersuchungen zur Wirkung von Lipopolysacchariden

LPS sind Zellwandbestandteile von gramnegativen Bakterien und werden beim Zerfall von im Darmlumen vorhandenen Bakterien freigesetzt. Im Plasma bewirken an LBP und CD14 gebundene LPS eine vermehrte Freisetzung von Zytokinen mit einer nachfolgenden Aktivierung des Immunsystems. Zur Frage des Effektes von LPS auf die einreihige Epithelschicht des Gastrointestinaltraktes liegen wenige Untersuchungen vor. In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir die Wirkung von LPS auf das intakte und experimentell vorgeschädigte humane Colonepithel.

Daraus ergaben sich folgende Fragen:

Welchen Effekt hat LPS auf die intakte humane Colonmucosa?

Besteht ein Unterschied in der Wirkung bei mucosaler oder beidseitiger oder serosaler Gabe?

Welchen Effekt hat LPS auf das Epithel nach vorheriger Schädigung durch HCl?

1.7.3 Pilotversuche zur Untersuchung von barriereprotektiven Substanzen

Sowohl für Wachstumsfaktoren wie TGF- β 1 als auch für Substanzen wie Diosmectit konnten positive Effekte wie Stimulation der Zellmigration und Stabilisierung der epithelialen Barriere nachgewiesen werden. In der vorliegenden Arbeit führten wir Pilotversuche zur Untersuchung der barriereprotektiven Effekte von TGF- β 1 und Diosmectit nach experimenteller Schädigung der Mucosa durch.

Daraus ergab sich folgende Fragestellung:

Wie wirkt die Zugabe von TGF- β 1 auf die gastrointestinale Barriere nach initialer Schädigung durch mucosal gegebene HCl in unserem In-vitro-Modell?

Zeigt sich nach Zugabe von Diosmectit ein positiver Effekt auf die Wiederherstellung der epithelialen Barrierefunktion nach Schädigung durch HCl?