

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Allgemeine Chirurgie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. N. Senninger -

**Der Einfluss von Ursodeoxycholsäure auf die Mikrozirkulation in der
Leber der Ratte nach bilio-pankreatischer Obstruktion**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Marc Kühme

aus Minden

2004

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. N. Senninger

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. med. T. Kucharzik

Tag der mündlichen Prüfung: 22.11.2004

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Allgemeine Chirurgie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. N. Senninger -
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. N. Senninger
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. T. Kucharzik

ZUSAMMENFASSUNG

Marc Kühme

Der Einfluss von Ursodeoxycholsäure auf die Mikrozirkulation in der Leber der Ratte nach bilio-pankreatischer Obstruktion

Ein posthepatischer Verschlußikterus führt im Rattenmodell zu einer Beeinträchtigung der intrahepatischen Mikrozirkulation. Diese könnte für eine Schädigung des hepatischen retikuloendothelialen Systems durch biliäre Obstruktion verantwortlich sein und somit letztendlich Komplikationen wie eine Sepsis oder eine biliäre Pankreatitis verursachen. Wir beschäftigten uns daher in der vorliegenden Studie mit der Frage, ob eine medikamentöse Beeinflussung der intrahepatischen Mikrozirkulation nach Verschlußikterus durch UDCA möglich ist. Bei 48 männlichen Wistar-Ratten mit 6 Tieren pro Gruppe wurde eine Mittellinienlaparotomie durchgeführt. Bei den Tieren der Gruppen 3 bis 8 wurde der D. pancreatico-choledochus ligiert, bei den Kontrollgruppen 1 und 2 lediglich mobilisiert. Zu festgelegten Zeitpunkten nach der OP wurde eine Relaparotomie mit folgender Epilumineszenz-Intravitalmikroskopie durchgeführt. Die Tiere der Gruppen 2, 4, 6, und 8 erhielten zusätzlich täglich 10mg/kg K.G. UDCA per os; beginnend 7 Tage vor der Ligatur bis zum Zeitpunkt der Intravitalmikroskopie. Die Ergebnisse wurden mit dem Wilcoxon-Test für ungepaarte Stichproben auf Signifikanz überprüft. Ergebnisse kleiner als 0,05 wurden als signifikant betrachtet. Alle Tiere überlebten den Versuchszeitraum. Die Quantifizierung des hepatischen Sinusendothelschaden erfolgte über die Auszählung der temporär und permanent adhärenenten Leukozyten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Gabe von UDCA im Rattenmodell ist geeignet, den hepatischen Sinusendothelschaden nach bilio-pankreatischer Obstruktion zu verringern. Inwieweit dies zur therapeutischen Beeinflussung des hepatischen RES und somit zur Verbesserung der Prognose einer biliären Pankreatitis beiträgt, muss in weiteren Studien gezeigt werden.

Tierversuchsgenehmigung des Regierungspräsidenten Münster Nr. G15/98.

Tag der mündlichen Prüfung: 22.11.2004

Abbildungsverzeichnis

- Abb.1: Anordnung der Geräte zur Durchführung der in vivo Mikroskopie
- Abb.2: Ratte unter dem Intravitalmikroskop
- Abb.3: Tabellarische Darstellung der Versuchsgruppen
- Abb.4: Ratte in der Narkoseglocke
- Abb.5: Schnittführung zur Präparation der Vena iugularis interna
- Abb.6: Verabreichung von UDCA mittels Knopfsonde per os
- Abb.7: Durchschnittlicher Sinusoidaldurchmesser der Kontrollgruppen in μm
- Abb.8: Durchschnittliche Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten ohne und mit Medikation von UDCA in den Kontrollgruppen
- Abb.9: Durchschnittliche Anzahl der permanent adhärenenten Leukozyten ohne und mit Medikation von UDCA in den Kontrollgruppen
- Abb.10: Durchschnittlicher Sinusoidaldurchmesser nach drei Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA in μm
- Abb.11: Durchschnittliche Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten nach drei Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA
- Abb.12: Durchschnittliche Anzahl der permanent adhärenenten Leukozyten nach drei Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA

- Abb.13: Durchschnittlicher Sinusoiddurchmesser nach fünf Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA in μm
- Abb.14: Durchschnittliche Anzahl der temporär adhären Leukozyten nach fünf Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA
- Abb.15: Durchschnittliche Anzahl der permanent adhären Leukozyten nach fünf Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA
- Abb.16: Durchschnittlicher Sinusoiddurchmesser nach sieben Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA in μm
- Abb.17: Durchschnittliche Anzahl der temporär adhären Leukozyten nach sieben Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA
- Abb.18: Durchschnittliche Anzahl der permanent adhären Leukozyten nach sieben Tagen Ligatur des Ductus pankreatico-choledochus ohne und mit Medikation von UDCA

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	3
2. Material und Methode	
2.1 In vivo Mikroskopie	6
2.1.1 Technischer Aufbau der Geräte	7
2.1.2 Fluoreszenzfarbstoffe	9
2.1.3 Kontrastmittelkonzentrationen	10
2.1.4 Durchführung der in vivo Mikroskopie	11
2.2 Versuchstiere	13
2.3 Versuchsgruppen	14
2.4 Anästhesie	15
2.5 Operationstechniken	17
2.5.1 Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus	17
2.5.2 Jugulariskatheter	18
2.5.3 Lebermobilisation zur Durchführung der in vivo Mikroskopie	20
2.6 Ursodeoxycholsäure	21
2.6.1 Verabreichung von UDCA mittels Knopfsonde	22
2.7 Gemessene Zielgrößen der Mikrozirkulation	24
2.8 Statistische Methoden	25
3. Ergebnisse	
3.1 Versuche	26
3.2 Ergebnisse der in vivo Mikroskopie	27
3.2.1 Kontroll-Gruppe	27
3.2.2 3 Tage Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus	30
3.2.3 5 Tage Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus	33
3.2.4 7 Tage Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus	36
3.3 Tabellarischer Anhang	39

4.	Diskussion	
	Teil A: Einführung und allgemeiner Teil	41
4.1	Leukozyten-Endothel-Interaktion	41
4.2	Ätiologie und Pathogenese der akuten biliären Pankreatitis	49
4.3	Versuchstiermodelle	53
4.4	Ursodeoxycholsäure (UDCA)	60
	Teil B: Diskussion und Bewertung der Ergebnisse	65
4.5	In vivo Mikroskopie	65
5.	Zusammenfassung	73
6.	Literaturverzeichnis	75
7.	Lebenslauf	97
8.	Danksagungen	99

1. Einleitung

Der akuten Pankreatitis liegt eine virale, bakterielle oder chemisch-toxisch induzierte Entzündung der Bauchspeicheldrüse zugrunde, die mit Störungen der exokrinen und endokrinen Funktion einhergehen kann. Klinisch besteht eine ausgeprägte Beschwerdesymptomatik mit akut einsetzender Abdominalsymptomatik und massiven systemischen Komplikationen.

Man unterscheidet im wesentlichen zwei Erscheinungsformen voneinander, die milde ödematöse Pankreatitis und die schwere hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis. Hierbei kann eine ödematöse Pankreatitis in eine hämorrhagische Form übergehen. Die häufig schwer verlaufenden hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitiden gehen beim Menschen mit einer Letalität von bis über 50% einher und können zu systemischen Komplikationen wie z.B. Schock, akutem Nierenversagen, pulmonaler Insuffizienz und Sepsis führen. Gallenwegserkrankungen und Alkohol sind die bedeutendsten Ursachen der akuten Pankreatitis, wobei die biliär induzierte Pankreatitis mit 40-60% in Deutschland am häufigsten ist.

Trotz zahlreicher Studien konnte bisher noch nicht endgültig geklärt werden, welche konkreten pathophysiologischen Mechanismen letztlich zum Ausbruch der Bauchspeicheldrüsenentzündung führen. Insbesondere ist bis heute unklar geblieben, welche Abläufe beim Übergang einer ödematösen in eine hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis entscheidend sind.

Eine wichtige Rolle für den Verlauf und die Prognose einer akuten Pankreatitis wird dem hepatischen RES zugeschrieben. In tierexperimentellen Studien konnte belegt werden, dass bei der artifiziellen Blockade des hepatischen RES eine ödematöse Pankreatitis in eine hämorrhagisch-nekrotisierende Verlaufsform übergeht (13). Bei einer akuten Pankreatitis führt demnach ein funktionsgemindertes RES zu einem prognostisch ungünstigeren Verlauf der Erkrankung.

Woraus die Einschränkung der RES-Funktion letztlich resultiert, ist nicht eindeutig geklärt, es scheinen jedoch zwei Faktoren von übergeordneter Bedeutung zu sein: Die hepatische Mikrozirkulation (80) und die Endotoxämie (145, 146, 147, 79).

Insbesondere die oben bereits erwähnte biliäre Obstruktion führt im Rattenmodell zu einer signifikanten Verschlechterung der hepatischen Mikrozirkulation im Sinne von Perfusionsstörungen, einhergehend mit einer Steigerung der Leukozyten-Endothel-Interaktion und einer Verminderung der Sinusoidaldurchmesser (80). Die Durchblutung

wiederum ist ein wichtiger Einflussfaktor auf die Funktionskapazität des RES der Leber. Somit haben Patienten mit Störungen der hepatischen Mikrozirkulation z.B. im Schock oder in der Sepsis auf Grund einer verminderten RES-Funktion ein deutlich erhöhtes Risiko einer Endotoxinämie, die häufig letal endet. Auch bei der biliären Obstruktion kommt es aus verschiedenen Gründen zu einem vermehrten Anfall von Endotoxinen im Blutkreislauf (145, 146, 152 79). Endotoxine schädigen nachweislich das RES, was zu einer verminderten Clearance von Endotoxinen aus dem Blutstrom führt und den Endotoxinspiegel noch weiter ansteigen lassen. Im Sinne eines Circulus vitiosus wird das RES dadurch noch stärker geschädigt.

Aus dem oben beschriebenen geht hervor, dass es sinnvoll erscheint, Therapieprinzipien zu entwickeln, die eine Unterstützung des RES zum Ziel haben, um die Prognose der akuten Pankreatitis zu verbessern. Ein Medikament, das diese Optionen möglicherweise bietet, ist die Ursodeoxycholsäure (UDCA). Bei der Ursodeoxycholsäure handelt es sich um eine hydrophile, atoxische Gallensäure, die im klinischen Alltag zum Auflösen von Cholesterin-Gallensteinen eingesetzt wird. In den letzten Jahren konnte darüber hinaus auch bei verschiedenen cholestatischen Lebererkrankungen die Wirksamkeit der Substanz belegt werden. Zu nennen sind hier vornehmlich die primär biliäre Zirrhose (PBC) und die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) (27, 121).

UDCA soll auf verschiedene Weisen wirken. Neben immunmodulatorischen Effekten steigert UDCA die hepatische Mikrozirkulation (187) und hat einen protektiven Effekt bei der durch biliäre Obstruktion bedingten Endotoxinämie (72). Diese beiden pharmakologischen Effekte sind, wie oben bereits erwähnt, wichtige Einflussfaktoren auf die Phagozytosekapazität des hepatischen RES. Denkbar wäre somit, dass die Gabe von UDCA bei Patienten mit akuter Pankreatitis einen positiven Effekt auf die RES-Funktion der Leber besitzt und dadurch den Krankheitsverlauf günstig beeinflusst.

Zur Beurteilung der hepatischen Mikrozirkulation ist die in vivo Mikroskopie hervorragend geeignet. Sie ermöglicht die direkte Darstellung der kleinsten Baueinheiten der Leber am lebenden Organismus, wobei die Möglichkeit besteht, Veränderungen verschiedener Parameter im Zeitverlauf zu betrachten. Mittlerweile ist die in vivo Mikroskopie im experimentellen Bereich etabliert. Es wurden bereits Untersuchungen an Gehirn, Herz, Lunge, Pankreas, Darm, Niere, Auge und Leber durchgeführt (14, 207).

Ziel dieser Arbeit war es, mit Hilfe der in vivo Mikroskopie den Effekt von UDCA auf die Mikrozirkulation der Leber bei biliärer Obstruktion zu beurteilen. Hierzu wurden männliche Wistar-Ratten verwendet, bei denen der Ductus pancreatico-choledochus darmnah ligiert wurde. Diese Konstellation löst eine hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis aus, die unbehandelt zum Tod des Versuchstieres führt. Dabei war die Dauer der Obstruktion in den einzelnen Gruppen unterschiedlich lang, um zu ergründen, wie sich eine Therapie von Ursodeoxycholsäure bei unterschiedlich lang andauernder biliärer Obstruktion auswirkt. Falls UDCA die Mikrozirkulation der Leber in allen Gruppen gleichförmig verbessern sollte, so wäre davon auszugehen, dass diese verbesserte Mikrozirkulation einen positiven Einfluss auf das RES hat und somit die Prognose der biliären Pankreatitis verbessert. Die genaue Quantifizierung der hepatischen RES-Funktion und die Beurteilung des histologischen Schweregrades der Pankreatitis könnte dann Gegenstand weiterer Studien sein.

2. Material und Methode

2.1 In vivo Mikroskopie

Bei der in vivo Mikroskopie wird zwischen einer Transillumination und einer Epiillumination unterschieden. Die Epiillumination hat jedoch mehr Anwendung gefunden (158), da bei der Transillumination nur ein Gebiet von 1 mm Durchmesser begutachtet wird, welches sehr empfindlich auf die Einwirkung von mechanischem Druck reagiert und somit leicht geschädigt wird. Ein organschonendes Verfahren der in vivo Mikroskopie stellt die inverse Fluoreszenzmikroskopie dar. Bei dieser Form der Epiillumination befinden sich die Lichtquelle und die Optik des in vivo Mikroskops unterhalb des auf einem Objektträger ausgelagerten linken Leberlappens. Durch dieses Verfahren entfällt die Drehung des linken Leberlappens, sowie die Einebnung des Lappens auf dem am Mikromanipulator befestigten Leberlöffel (189).

Mittels Durchführung der in vivo Mikroskopie ist es möglich eine Vielzahl an Faktoren der Mikrozirkulation in der Leber zu messen und zu beurteilen, wie zum Beispiel:

- Aktivität der Leukozyten-Endothel-Interaktion
- Durchmesser der Lebersinusoide
- Anzahl der perfundierten Lebersinusoide
- Aktivitätszustand der von-Kupfferschen-Sternzellen
- Geschwindigkeit der Erythrozyten und Leukozyten im Blutfluss
- Durchlässigkeit der Kapillaren

2.1.1 Technischer Aufbau der Geräte

Zur Durchführung der Versuche nutzten wir die folgend genannten technischen Geräte:

Mikroskop:

- Zeiss Germany
- Okulare: P1 10x/20
- Objektiv: Zeiss Plan-Neofluar 16x/0,5 mm Wasserimmersion
- Quecksilberlampe HBO 100 W/2
- Filter: 450-490, FT 510 (10) blau 515-565 für Fluorescein-Natrium und Latex Beads
- Filter: 510-560, FT 580 (14) grün LP 590 für Rhodamin 6G

Bildaufnahme und Verarbeitung:

- Videocamera (Pieper FK 6990-IQ)
- Videorekorder (Panasonic AG-7350)
- Timer (FOR-A VTG 33)
- Bildschirm (Pieper IQM 538)
- PC mit Bildverarbeitungssoftware (analySIS Pro 2.11.007)

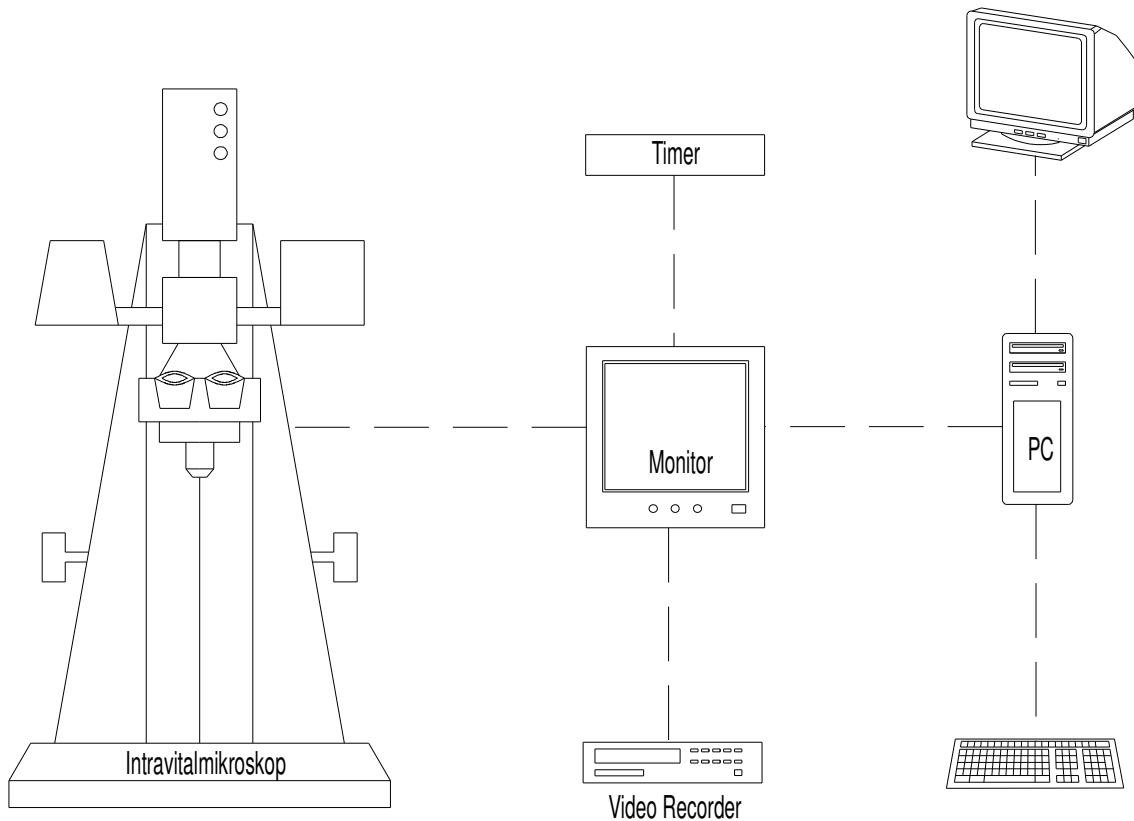


Abb.1: Anordnung der Geräte für die in vivo Mikroskopie

Durch ein in den Strahlengang des Mikroskops installierten Zoom konnte eine Bildvergrößerung zwischen dem 380- und 1520-fachem des zu untersuchenden Objektes erreicht werden. Zur Beurteilung der Sinusoidaldurchmesser und der Leukozyten-Endothel-Interaktion zeigte sich eine Vergrößerung um das 670-fache als am besten geeignet. Wurde eine stärkere Vergrößerung gewählt, so war eine ausreichende Beleuchtung nicht mehr gewährleistet und der zu untersuchende Bezirk mangels ungenügender Größe nicht mehr repräsentativ. Mittels Feinregulation am Intravitalmikroskop erfolgte die Bildschärfeneinstellung des zu untersuchenden Leberfeldes. Dies konnte an dem angeschlossenen Monitor beurteilt werden und wurde mittels eines Videorekorders auf einem Videoband aufgezeichnet. Nach Abschluss der Aufnahmen wurde das Videoband durch die Bildverarbeitungssoftware Analysis (analySIS Pro 2.11.007) durch einen PC auf die zu untersuchenden Parameter beurteilt und ausgewertet.

2.1.2 Fluoreszenzfarbstoffe

Bei der in vivo Mikroskopie besteht die Möglichkeit der Nutzung einer Vielzahl an Fluoreszenzfarbstoffen. Hiervon stellen Natriumfluoreszein, Rhodamin 6G, Acridinorange sowie Fluoreszeinisothioyanat (FITC)-markierte Hydroxyäthylstärke (HAES) die am häufigsten genutzten Substanzen dar. Um die Phagozytosekapazität der von-Kupfferschen-Sternzellen zu beurteilen, nutzt man fluoreszierende Latex Beads (116, 156, 157, 194). Geschädigte Zellen können mittels Propodium-Iodid gefärbt und sichtbar dargestellt werden (189).

Für die Anfärbung der Leukozyten im Blut hat sich Rhodamin 6G als der am besten geeignete Fluoreszenzfarbstoff erwiesen (114, 207). Acridinorange ist zur Leukozytenfärbung ebenfalls nutzbar, jedoch konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass sich hierdurch weniger Leukozyten anfärben lassen als mit Rhodamin 6G (158). Zur Erythrozytenfärbung nutzt man Fluoreszeinisothiocyanat. Als die geeignetste Färbung zur Durchführung der in vivo Mikroskopie hat sich jedoch die Doppelfärbung mit Natrium-Fluoreszein und Rhodamin 6G herausgestellt (157).

Rhodamin 6G

Bei Rhodamin 6G ($C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$; $M=479,02$; SIGMA) handelt es sich um eine Substanz mit einer positiven Ladung. Durch diese Ladung wird eine Bindung an Membranen der Leukozytenmitochondrien ermöglicht, wodurch diese markiert werden (14) und mittels der in vivo Mikroskopie sichtbar gemacht werden können. Die stärkste Aufnahme des Rhodamin 6G wurde in den periportal Gefäßen beobachtet (157). Rhodamine finden industriell Anwendung zur Herstellung von Farbstoffen für Leuchtpigmente, Pigmenten für Druckfarben- und Schreibtinten und zur Färbung von Seide, Jute, Wolle und Papier.

Natriumfluoreszein

Natriumfluoreszein ($C_{20}H_{10}Na_2O_5$; $M=376,28$; Absorptionsmaximum: 490-492nm; SIGMA) wird besonders in den perizentralen Gebieten der Leber aufgenommen. Hierdurch erfolgt eine starke Kontrastierung zwischen den Lebersinusoiden und den Hepatozyten. Daher benutzt man Natriumfluoreszein zu der Beurteilung und der Auswertung der mikrovaskulären Perfusionsrate und der Ausmessung der Durchmesser der Sinusoide (157). In der gesunden Leber kann die Natriumfluoreszein-Exkretion in die interzellulären Gallekanälchen direkt beobachtet werden, was aber nach einem Ischämie-Reperfusionsschaden aufgrund der verminderten hepatozellulären Funktion nicht mehr möglich ist (158).

In der Klinik wird Natriumfluoreszein vor allem in der Ophthalmologie genutzt um Hornhauterosionen darzustellen, Fluoreszenz-Angiographien der retinalen Gefäße durchzuführen und die Durchgängigkeit der Tränenwege zu prüfen.

2.1.3 Kontrastmittelkonzentrationen

In dieser Studie erfolgte die intravenöse Gabe der Kontrastmittel über einen in der Vena iugularis interna eingebrachten Katheters. 15 Minuten vor dem Beginn der in vivo Mikroskopie erfolgte die intravenöse Verabreichung von Rhodamin 6G in einer Dosierung von $0,1 \mu\text{mol/kg}$ Körpergewicht. Danach wurde Natriumfluoreszein unter mikroskopischer Kontrolle in einer Dosierung von $1 \mu\text{mol/kg}$ Körpergewicht intravenös über den Katheter injiziert.

Die Endkonzentration betrug für Rhodamin 6G $0,096 \text{ mg/ml}$ ($0,2 \mu\text{mol/ml}$) und für Natriumfluoreszein $0,75 \text{ mg/ml}$ ($2 \mu\text{mol/ml}$) (159, 195). Wurde im Versuchsverlauf eine abschwächende Wirkung des Natriumfluoreszeins beobachtet, so konnte unter optischer Kontrolle zusätzlich Kontrastmittel intravenös verabreicht werden.

2.1.4 Durchführung der in vivo Mikroskopie

Zur Durchführung und zur Beurteilung der in vivo Mikroskopie ist eine glatte Fläche obligat, da nur diese scharfe Bilder liefert, die zu einer objektiven Auswertung nutzbar sind. Hierfür eignet sich am besten der linke Leberlappen, da er eine sehr plane Unterfläche bildet und durch die im Gegensatz zu den anderen Lappen erhebliche Größe gut zu mobilisieren und aus dem Abdomen auszulagern ist. Bei diesem Vorgang ist darauf zu achten, daß die Unterseite nicht direkt berührt wird, da hierdurch Blutungen entstehen können oder sich die Manipulation auf die Ergebnisse der Leukozyten-Endothel-Interaktion auswirken. Vor Durchführung der Leberauslagerung müssen die Bandstrukturen des linken Leberlappens mit dem Magen, dem Zwerchfell und den übrigen Leberlappen vorsichtig durchtrennt werden, bis dieser frei beweglich ist. Zur Auslagerung des linken Leberlappens werden zwei feuchte Stieltupfer verwendet, mit denen die Unterseite nicht berührt werden darf. Der Lappen wird an der Oberfläche beginnend mit den Tupfern im Uhrzeigersinn gedreht und aus dem Abdomen herausgelagert, sodass die Lappenunterseite nach oben zu liegen kommt. Nun wird die Leber auf einen Löffel am Mikromanipulator des in vivo Mikroskops gelagert, der an seiner Oberseite eine aus Knetmasse der Leberoberfläche anmodulierte Bett aufweist. Da die Leber den Atemexkursionen des Tieres folgt, muss mittels des zu allen Seiten beweglichen Mikromanipulators versucht werden, den Leberlappen in eine Lage zu bekommen, in der der Lappen kaum diesen Bewegungen folgt. Hierbei muss darauf geachtet werden, daß zu keiner Zeit durch Kompression der Gefäße der Blutzufluss zur Leber beeinflusst wird. Ist die Leber ruhig in der Knetmasse zum Liegen gekommen, wird anschließend ein Deckgläschen auf die Leberunterfläche aufgebracht. Vor und während der Mikroskopie muss die Leber ständig mit 0,9%iger NaCl-Lösung befeuchtet werden, um sie vor Austrocknung und der durch das Licht des Mikroskops entstehende Wärme zu schützen. Bei der in vivo Mikroskopie ist darauf zu achten, dass das Objektiv niemals direkt mit den Deckgläschen in Berührung kommt, da durch die Kompression Einfluss auf die Ergebnisse genommen wird. Nun erfolgte die Vorbereitung zur in vivo Mikroskopie.

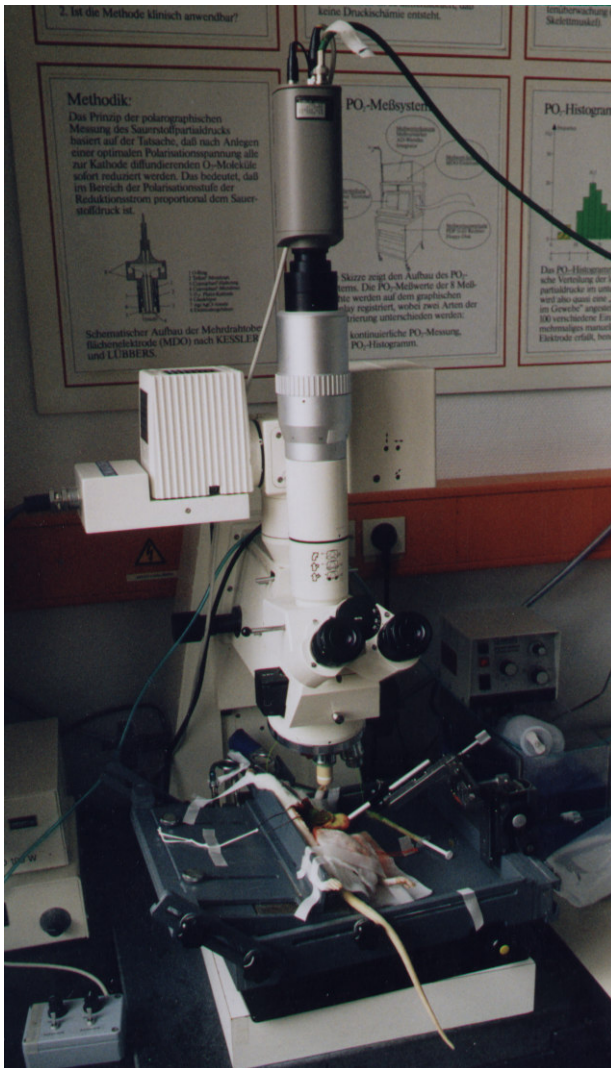


Abb.2 : Ratte unter dem Intravitalmikroskop

2.2 Versuchstiere

Die gesamten Versuche wurden in der Abteilung der Chirurgischen Forschung der Klinik und Poliklinik für Allgemeine Chirurgie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster durchgeführt (Tierversuchsgenehmigung des Regierungspräsidenten Münster Nr. G15/98). Für die Versuche wurden ausschließlich männliche Albino-Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 200-250 g (Firma Charles River, Sulzfeld) verwendet. Nach dem Eintreffen der Versuchstiere in den tierexperimentellen Einrichtungen wurden sie zunächst für mindestens 7 Tage in Drahtkäfigen der Firma EBECO unter konventionellen Bedingungen gehalten:

- 12-stündiger Hell-Dunkel-Rhythmus (7-19 Uhr Beleuchtung)
- Temperatur 22-24°C
- Haltungsdiät Mäuse-Ratten 1324 (Pellets der Firma Altromin)
- 12 Stunden vor dem Beginn der Operation wurden die Versuchstiere in Einzelkäfige (Maluonkäfig Typ 3, DST) nüchtern gesetzt, erhielten jedoch freien Zugang zu Wasser.

Gesunde Tiere ohne Anzeichen von Atemwegserkrankungen und mit ausreichendem Körpergewicht wurden für die Versuche verwendet.

2.3 Versuchsgruppen

Es wurden 48 männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht zwischen 200-250g auf insgesamt 8 Gruppen verteilt, wobei jede der Gruppen eine Anzahl von 6 Tieren aufwies. Bei jeder Ratte erfolgte eine mediane Laparotomie, zusätzlich wurde bei den Tieren der Versuchsgruppen 3-8 eine chirurgische Obstruktion des Ductus pancreatico-choledochus vorgenommen.

Bei den Sham-Gruppen 1 und 2 wurde der Ductus lediglich mobilisiert. Sieben Tage vor dem Beginn der Ligatur oder der Mobilisierung erhielten die Tiere der Versuchsgruppen 2, 4, 6 und 8 zusätzlich eine tägliche Prämedikation von 10 mg UDCA pro Kilogramm Körpergewicht per os bis zum Zeitpunkt der Intravitalmikroskopie.

Die Tiere der Gruppen 3 und 4 wurden drei Tage, die Tiere der Gruppen 5 und 6 fünf Tage, und die Tiere der Gruppen 7 und 8 sieben Tage nach Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus in vivo mikroskopiert.

Bei den Sham-Gruppen 1 und 2, bei denen nur eine Mobilisierung des Ductus durchgeführt wurde, wurden nach fünf Tagen in vivo mikroskopiert.

Versuchsgruppe	Medikation mit UDCA	Behandlung des Ductus pancreatico-choledochus	Intravitalmikroskopie Tage nach Operation
1	Nein	Mobilisierung	5
2	Ja	Mobilisierung	5
3	Nein	Obstruktion	3
4	Ja	Obstruktion	3
5	Nein	Obstruktion	5
6	Ja	Obstruktion	5
7	Nein	Obstruktion	7
8	Ja	Obstruktion	7

Abb.3: Tabellarische Darstellung der Versuchsgruppen

2.4 Anästhesie

Für die Narkose dieser in vivo Versuche wurde eine Äther-Inhalationsanästhesie gewählt. Untersuchungen belegen, dass die Mononarkose mit Diäthylether eine ausreichende Analgesie, Sedierung und Muskelrelaxation bei erhaltener Spontanatmung der Tiere gewährleistet. Die Herzfrequenz und die Funktion der Mikrozirkulation werden durch diese Anästhesieform nicht beeinflusst. Äther wird zudem nicht hepatisch metabolisiert. Nachteile dieser Inhalationsnarkose ist eine zu Beginn verstärkt auftretende Sekretion der Bronchialschleimhaut, die jedoch die Sauerstoffaufnahme der gesunden Tiere kaum beeinträchtigt, da Äther zugleich auch eine bronchodilatatorische Wirkung aufweist.

Die Einleitung der Narkose erfolgte durch Einbringen der Tiere in eine Glasglocke (Durchmesser 20 cm, Höhe 22cm), auf deren Boden ein mit ca. 12 ml Äther (Äther zur Narkose, Hoechst) getränktes Zellstofftuch eingelegt wurde.

Nach dem Verschwinden der Stellreflexe wurden die Tiere aus der Glocke entnommen und das Abdomen und die rechte Halsseite rasiert.

Zur Aufrechterhaltung der Narkose während der Operation diente eine mit einem äthergetränkten Mullbausch gefüllte Perfusorspritze ohne Kolben. Die Narkosetiefe konnte über Variierung des Abstandes der Spritze von der Schnauze des Tieres reguliert werden. Um eine ausreichende Narkosetiefe zu gewährleisten, waren anfänglich eine Gaskonzentration von ca. 15-18 Vol% Äther und im weiteren Operationsverlauf zur Konstanthaltung der Narkosetiefe eine Konzentration von ca. 6-8Vol% erforderlich.



Abb.4: Ratte in der Narkoseglocke

2.5 Operationstechniken

Es wurden zwei Operationen an den Versuchstieren durchgeführt. Bei der ersten Operation wurde bei den Tieren mittels einer chirurgischen Ligatur der Ductus pancreatico-choledochus obstruiert, um hierdurch eine extrahepatische Cholestase und Pankreasobstruktion hervorzurufen.

In einer zweiten Operation, die nach einem festgelegten Zeitpunkt erfolgte, wurden die Tiere für die in vivo Mikroskopie vorbereitet. Hierzu war es erforderlich, einen Katheter zur Kontrastmittelinjektion in die Vena iugularis interna einzubringen. Nach erfolgreicher Katheterimplantation wurde der linke Leberappen zur Auslagerung auf das in vivo Mikroskop vorbereitet.

2.5.1 Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus

Nach Einleitung der Narkose erfolgte die Rasur im Bereich des Abdomens bis zur Höhe des Xiphoids. Zur Desinfektion des OP-Bereiches wurde Kodan®-Spray verwendet. Die Lagerung der Tiere erfolgte in Rückenlage auf einer Heizplatte, die mittels eines externen Wasserbades erhitzt wurde, um die Körpertemperatur des Tieres auf 36°C konstant zu halten. Eine starke Abkühlung der Tiere intra- und postoperativ erhöht die Letalität und beeinflusst somit maßgeblich die Versuchsergebnisse. Die Extremitäten wurden distal mit Leukosilk® umklebt und durch Heftzwecken auf einer Korkplatte fixiert.

Mittels medianer Laparotomie entlang der Linea alba wurde das Abdomen ca. 1 cm oberhalb der Spinae iliacae superiores bis zum Xiphoid eröffnet. Anschließend wurde das Darmkonvolut durch feuchte Stieltupfer vorsichtig in eine mit NaCl befeuchtete Mullkompressen geschoben und linksseitig ausgelagert. Um den Operationssitus ausreichend überschauen zu können, wurde das Xiphoid mittels einer Klemme nach kranial gezogen und auf beiden Abdominalseiten Bauchhaken eingebracht.

Mit Hilfe des Operationsmikroskops (Mentor, Firma Zeiss, Okulare: 15x) wurde der Ductus pancreatico-choledochus im Pankreasgewebe aufgesucht. Das makroskopische Erscheinungsbild des Gangs ähnelt sehr einer Glasnudel. Mittels zweier Pinzetten

wurde rings um den Gang herum Pankreasgewebe herauspräpariert. Dies geschah unter großer Vorsicht, da bei einer Gewebeschädigung starke Blutungen auftreten können. Nachfolgend wurde der Gang mittels Nahtmaterial (Seide „E“ geflochten schwarz, 6-0 USP) ligiert. Folgend wurde der Darm behutsam rückverlagert und der Situs mittels chirurgischen Nahtmaterial (Muskulatur mit Vicryl® 4-0; Haut mit Prolene® 4-0) verschlossen.

2.5.2 Jugulariskatheter

Zur Durchführung der *in vivo* Mikroskopie musste bei allen Versuchstieren ein Jugulariskatheter eingebracht werden. Dieser Katheter war notwendig, um über diesen Volumen und die Fluoreszenzfarbstoffe Rhodamin 6G und Natriumfluoreszein den Tieren infundieren zu können.

Wie oben beschrieben wurden die Tiere nach Narkoseeinleitung supraklavikulär im rechten zervikalen Bereich rasiert und für die Operation vorbereitet.

Ca. 3 mm oberhalb der Klavikula erfolgte mittels einer kleinen Präparierschere ein Hautschnitt quer zur Längsachse des Tieres. Mikroskopisch wurde die Präparation der Vena iugularis interna vorgenommen, die auf einer Strecke von ca. 5 mm nach kaudal dargestellt wurde. Das Gefäß wurde nahe an der Klavikula mittels einer Mikroklemme gestaut. Oberhalb der Klemme wurde der Blutfluss durch chirurgisches Nahtmaterial unterbunden. Durch eine Querinzision wurde die Vena iugularis interna mit Hilfe einer Mikroschere eröffnet und das Einbringen des Polyethylenschlauches (15 cm Polyethylenschlauch mit einem Innendurchmesser von 0,58 mm und einem Außendurchmesser von 0,96 mm, der mit dem Führungsstück einer Flexüle von INSYTE- W, 22G verbunden war) vorgenommen. Dieser wurde bis zum rechten Vorhof des Herzen vorgeschoben. Ca. 3 cm vor dem Katheterende war eine Markierung angebracht, die dafür sorgte, dass das Katheter unmittelbar vor dem rechten Herzvorhof zum liegen kam.



Abb.5: Schnittführung zur Präparation der Vena iugularis interna

2.5.3 Lebermobilisation zur Durchführung der in vivo Mikroskopie

Zur in vivo Mikroskopie dient die Unterfläche des linken Leberlappens, da dieser aufgrund seiner Lage, Größe und planen Unterfläche zur Durchführung der Beobachtung am besten geeignet ist.

Daher musste zunächst der linke Leberlappen dargestellt und mobilisiert werden.

Zu Beginn erfolgte eine Relaparotomie und ein Schnitt unterhalb des linken Rippenbogens, der zur Entlastung dienen sollte. Um einen guten Überblick auf den Operationssitus zu bekommen wurden beiderseits Bauchhaken eingelegt. Das Darmkonvolut wurde zur linken Seite in einer Mullbinde ausgelagert und stets feucht gehalten. Zur besseren Darstellung der Leber wurde das Xiphoid mittels einer Klemme nach kranial gezogen. Zur Lebermobilisation war es notwendig, sämtliche Bandstrukturen der Leber und insbesondere des linken Leberlappens vorsichtig mit Hilfe der Mikroschere zu durchtrennen, bis dieser frei beweglich war. Die Behandlung der Leber geschah mit großer Sorgfalt, da eine mechanische Beanspruchung der Unterseite des linken Leberlappens zu einer vermehrten Leukozytenadhärenz und zu Mikroblutungen führt und somit verfälschte Ergebnisse entstehen. Die Lebermobilisation erfolgte mit befeuchteten Watteträgern, mit denen die Unterfläche nicht berührt werden durfte. Nach erfolgreicher Mobilisation war es nötig, den linken Leberlappen in die korrekte Position zu bringen. Mit Hilfe von zwei feuchten Watteträgern wurde der Leberlappen um 180° im Uhrzeigersinn gedreht, sodass die Unterfläche nach oben zum liegen kam. Nun erfolgte die Vorbereitung zur in vivo Mikroskopie.

2.6 Ursodeoxycholsäure

Bei der Ursodeoxycholsäure (UDCA) handelt es sich um ein Medikament, welches im Cholesterinkreislauf eingreift. UDCA wird vornehmlich zum Auflösen von Cholesterin-Gallensteinen angewendet. Ursodeoxycholsäure bewirkt eine Hemmung der Synthese, der biliären Ausscheidung und der interstinalen Resorption von Cholesterin. Der klinische Erfolg hängt maßgeblich von der Größe des Steins ab. Die Erfolgsquote liegt heute bei ca. 40%.

Als Nebenwirkungen können Diarrhöe und ein Anstieg der Serumtransaminasen auftreten. In verschiedenen klinischen Studien wurde belegt, daß UDCA den Verlauf und die Prognose anderer Erkrankungen günstig beeinflussen kann. Zu nennen ist hier vornehmlich der Formenkreis der cholestatischen Lebererkrankungen. Pharmakotherapeutisch bedeutsam ist dabei die Senkung der cholangio- und hepatozellulären Toxizität der Galle. Hierbei werden hydrophobe Gallensäuren von den Hepatozytenmembranen entfernt und somit der Cholestase entgegengewirkt. Dadurch werden die Hepatozyten geschützt und die Leberfunktion verbessert. Neben diesen Effekten stabilisiert UDCA die hepatozellulären Zellmembranen, beeinflusst die zelluläre Signaltransduktion, wirkt protektiv gegen Mitochondrienschädigungen und weist immunmodulatorische Effekte auf. Verschiedene Studien belegen, dass UDCA sowohl bei der primären biliären Zirrhose als auch bei der primär sklerosierenden Cholangitis einen positiven Verlauf auf die Erkrankung ausüben kann. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei allen Cholangiopathien im Frühstadium UDCA pharmakotherapeutisch eingesetzt werden kann, da es in der Lage ist, unspezifisch die hepato- und cholangiotoxische Wirkung der Galle zu senken.

2.6.1 Verabreichung von UDCA mittels Knopfsonde

Um den Versuchstieren UDCA verabreichen zu können, wurden eine 10 ml Injektionsspritze und eine gebogene Knopfsonde benutzt. Zu Beginn wurde UDCA in die Spritze aufgezogen und anschließend die Knopfsonde der Spritze aufgesteckt. Im Anschluss wurden die Ratten durch einen gezielten Griff in das Nackenfell aus dem Käfig gehoben. Hierbei kam der Rücken der Tiere in der rechten Handinnenfläche zum Liegen und das Genick wurde zwischen Daumen und Zeigefinger der rechten Hand fixiert. Um problemlos die Knopfsonde mit der linken Hand in den Ösophagus des Tieres einführen zu können, musste der Abstand zwischen Mandibula und Thoraxvorderwand der Ratte ca. 60 Grad betragen. Dies wurde durch leichte Reklination des Kopfes mittels Zug im Nackenfell erreicht. Nun konnte die Knopfsonde per os eingeführt werden. Dieses Procedere musste sehr behutsam geschehen, damit keine Perforation der Speiseröhre oder eine versehentliche Injektion in das Tracheobronchialsystem erfolgte. Diese Methode der Verabreichung von UDCA per os erwies sich nach einer kurzen Übungszeit als eine einfach durchzuführende und zeitsparende Methode.



Abb.6: Verabreichung von UDCA per os

2.7 Gemessene Zielgrößen der Mikrozirkulation

In dieser Studie wurden nacheinander durch das in vivo Mikroskop 10 Felder der Versuchstierleber zufällig eingestellt und ausgewertet. Ein Feld beinhaltete hierbei die Sinusoide eines halben Azinus. Beurteilt wurden hierbei in jedem Feld die Durchmesser von 10 Sinusoiden sowie in einem Zeitraum von 30 Sekunden die Anzahl der temporär adhären Leukozyten/mm² (Sticker) sowie die permanent adhären Leukozyten/mm² (Roller).

Im Folgenden sind die in dieser Studie untersuchten Parameter der Mikrozirkulation definiert:

Sinusoidaldurchmesser:

Breite der Lebersinusoide in μm (17, 75, 81, 178, 189)

In dieser Studie erfolgten die Messungen in zufällig ausgewählten Bereichen von 10 halben Azini der Leber. Hierbei wurden jeweils 10 Sinusoide midzonal in einem halben Azinus pro Tier gemessen.

Temporär adhären Leukozyten (roller) in den Sinusoiden:

Hierbei handelt es sich um Leukozyten, die an den Endothelzellen entlangrollen und mit diesen zeitweise in Kontakt treten (4, 18). Roller bewegen sich mit einer Geschwindigkeit $\leq 30\%$ gegenüber freifliessenden Leukozyten in der Gefäßmitte der Sinusoide. In dieser Studie wurde die Anzahl an Rollern in einem Beobachtungszeitraum von 30 Sekunden bestimmt (115, 116). Die Auswertung erfolgte am laufenden Videoband in 10 Feldern pro Tier.

Permanent adhären Leukozyten (sticker) in den Sinusoiden:

Hierbei handelt es sich um Leukozyten, die im Beobachtungszeitraum länger als 20 Sekunden an den Endothelzellen der Sinusoide fest haften(114, 115 ,116). Die Auswertung erfolgte am laufenden Videoband in 10 Felder pro Tier.

2.8 Statistische Methoden

Alle Ergebnisse der Versuchsreihen wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt.

Um die Ergebnisse der Messungen der Durchmesser der Lebersinusoiden und die Anzahl an temporär- und permanent adhärenenten Leukozyten in den verschiedenen Serien miteinander zu vergleichen, wurde der Wilcoxon-Test für ungepaarte Stichproben gewählt. Die graphischen Darstellungen der Ergebnisse erfolgten in Säulendiagrammen mit Mittelwert \pm Standardabweichung.

Als signifikant angesehen wurde jeweils ein Unterschied bei einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ bei mit UDCA behandelten Tieren gegenüber unbehandelten Tieren.

3. Ergebnisse

3.1 Versuche

In dieser Studie wurden nur Tiere aufgenommen, die vor Versuchsbeginn und während der Versuchszeit keine gesundheitlichen Beeinträchtigungen wie z.B. Pneumonien oder Infektionen der Operationswunden aufwiesen, die zu einer Verfälschung der Messergebnisse hätten führen können. Durch die Verabreichung von UDCA mittels Knopfsonde per os traten bei wenigen Tieren Aspirationspneumonien auf, die aus diesem Grund nicht in die Studie aufgenommen wurden. Einige Tiere verstarben im Verlauf der Operationen oder der intravitalmikroskopischen Messungen, sodass hier keine Ergebnisse erhoben werden konnten.

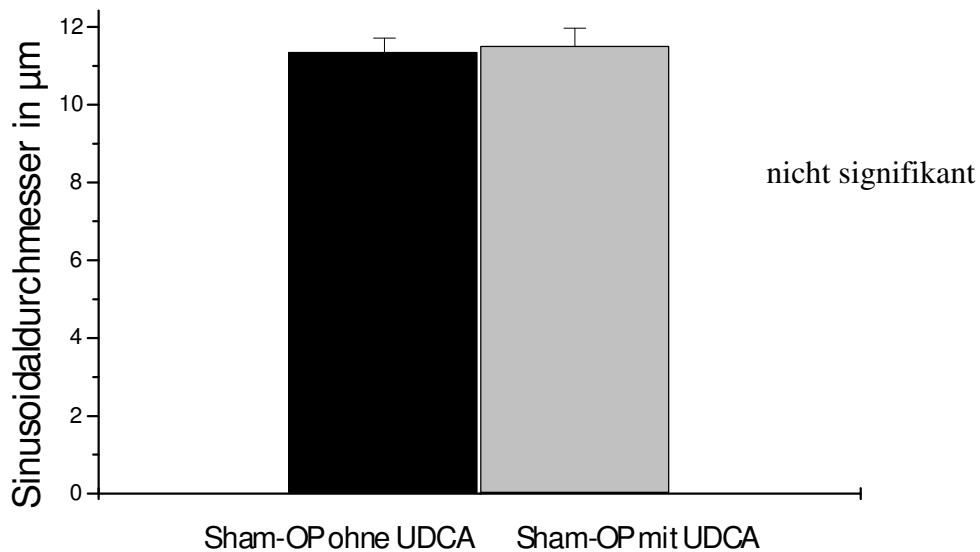
Die Ergebnisse der Versuche zeigten unterschiedliche Auswirkungen zwischen Tieren, die eine Medikation von 10 mg/kg Körpergewicht UDCA und Tieren, die keine Medikation erhielten. Zudem wurden Differenzen zwischen den Gruppen mit unterschiedlich langer Dauer der Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus gemessen. In den Kontrollgruppen, bei denen lediglich eine Laparotomie und Mobilisation des Ductus pancreatico-choledochus durchgeführt wurde, fanden sich kaum differente Werte. Im folgenden sind die durchschnittlichen Messergebnisse der Sinusoidaldurchmesser, der temporär adhärenenten Leukozyten (Roller) und der permanent adhärenenten Leukozyten (Sticker) der Kontroll- und der behandelten- und unbehandelten Versuchsgruppen in Form von Säulendiagrammen dargestellt.

3.2 Ergebnisse der in vivo Mikroskopie

3.2.1 Kontrollgruppe

Sinusoidaldurchmesser der Kontrollgruppen mit medianer Laparotomie und Mobilisierung des Ductus pancreatico-choledochus (Kontrollgruppen 1 und 2)

Abb.7:

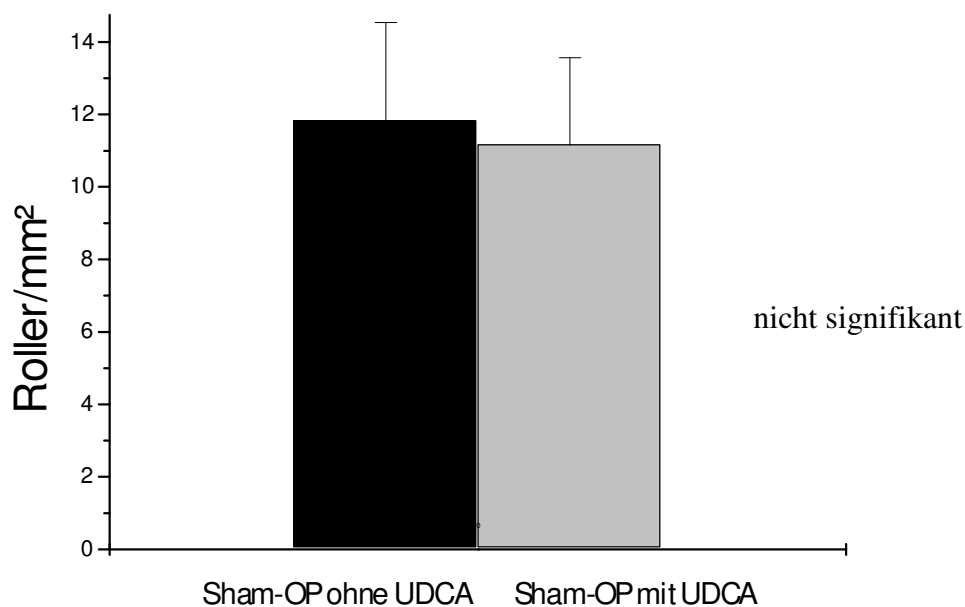


Durchmesser der Sinusoide in μm ohne und mit Medikation von 10mg/kg Körpergewicht UDCA (Kontrollgruppe 1 n=6; Kontrollgruppe 2 n=6)

Der Unterschied der Sinusoidaldurchmesser zwischen den Kontrolltieren mit und ohne Medikation von UDCA ist statistisch nicht signifikant. Der mittlere Durchmesser der Sinusoide der Gruppe, die mit UDCA behandelt wurde, betrug $11,5 \pm 0,48 \mu\text{m}$. Betrachtet man die Sinusoidaldurchmesser der Gruppe ohne UDCA, so lag der Sinusoidaldurchmesser bei $11,33 \pm 0,38 \mu\text{m}$.

Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten/mm² (Roller) bei den Kontrollgruppen mit medianer Laparotomie und Mobilisierung des Ductus pancreatico-choledochus (Kontrollgruppen 1 und 2)

Abb.8:

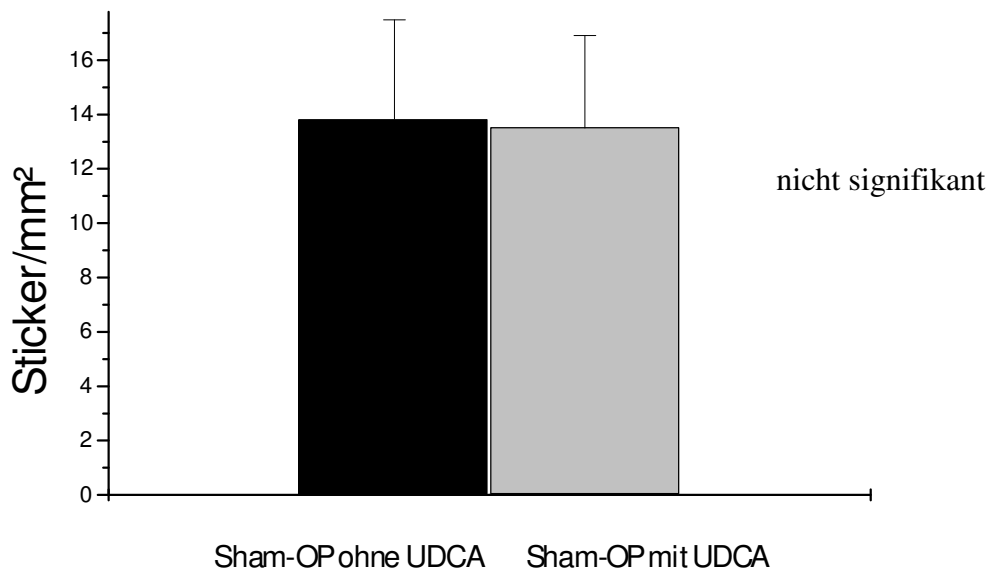


Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten (Roller) pro mm² ohne und mit Medikation von 10mg/kg Körpergewicht UDCA (Kontrollgruppe 1 n=6; Kontrollgruppe 2 n= 6)

In der Kontrollgruppe, die kein UDCA erhielt, lag die durchschnittliche Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten bei $11,83 \pm 2,79$ pro mm². In der Gruppe, die mit UDCA behandelt wurde, betrug der Durchschnittswert an temporär adhärenenten Leukozyten $11,17 \pm 2,4$ pro mm². Mathematisch konnte hier keine Signifikanz bewiesen werden. Die Ergebnisse differieren minimal.

Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten/mm² (Sticker) bei den Kontrollgruppen mit medianer Laparotomie und Mobilisierung des Ductus pancreatico-choledochus. (Kontrollgruppen 1 und 2)

Abb.9:



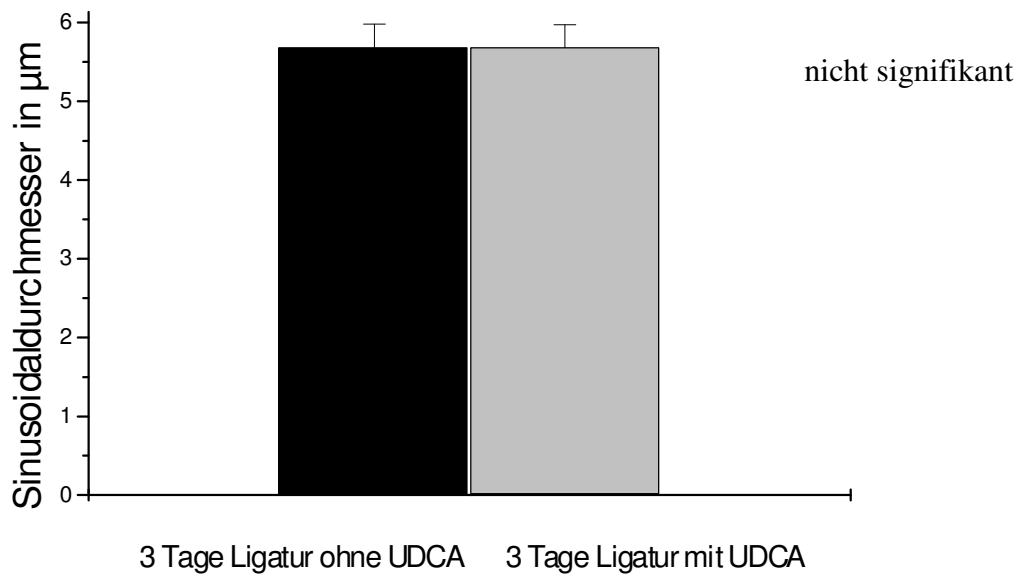
Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten (Sticker) pro mm² ohne und mit Medikation von 10mg/kg Körpergewicht UDCA (Kontrollgruppe1 n=6; Kontrollgruppe 2 n=6).

Auch in diesen Kontrollgruppen findet sich bezüglich der permanent adhärenen Leukozyten/mm² kein signifikanter Unterschied. Die Anzahl der in der mit UDCA behandelten Gruppe betrug im Durchschnitt $13,5 \pm 3,4$ Sticker/mm². In der unbehandelten Kontrollgruppe fanden sich durchschnittlich $13,83 \pm 3,66$ Sticker/mm².

3.2.2 3 Tage Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus

Sinusoidaldurchmesser der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der in vivo Mikroskopie. Die Intravitalmikroskopie wurde 3 Tage nach der Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 10 Tagen. (Versuchsgruppen 3 und 4)

Abb.10:

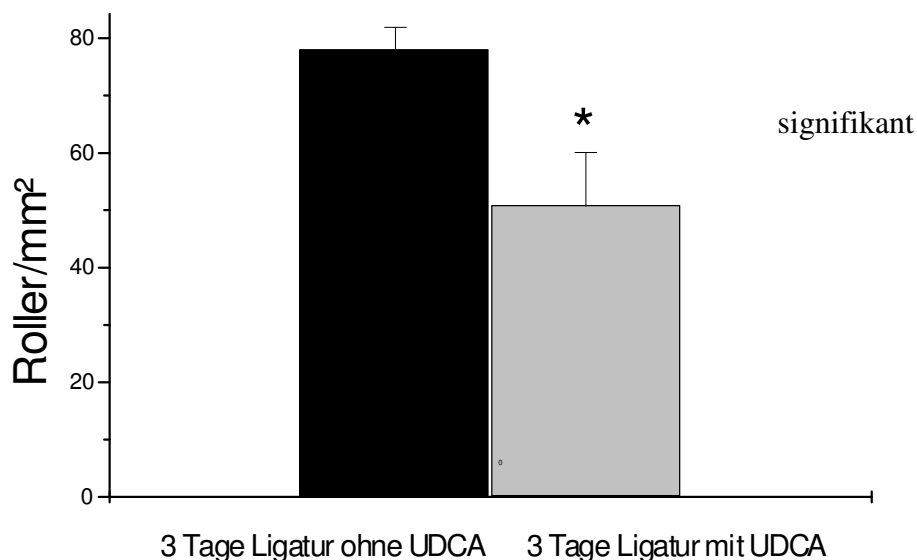


Durchmesser der Sinusoide in μm ohne und mit Medikation von 10mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe 3 n=6; Versuchsgruppe 4 n=6).

In diesen Gruppen fanden sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Durchmesser der Sinusoide. Durchschnittlich waren die Sinusoide der unbehandelten Gruppe um ca. 0,6 μm schmaler als in der behandelten Gruppe. Die Sinusoidaldurchmesser unter UDCA Therapie betragen im Mittel $6,33 \pm 0,29 \mu\text{m}$, die der unbehandelten Gruppe $5,68 \pm 0,23 \mu\text{m}$.

Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten/mm² (Roller) der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der in vivo Mikroskopie. Die Mikroskopie wurde 3 Tage nach Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 10 Tagen. (Versuchsgruppen 3 und 4)

Abb.11:



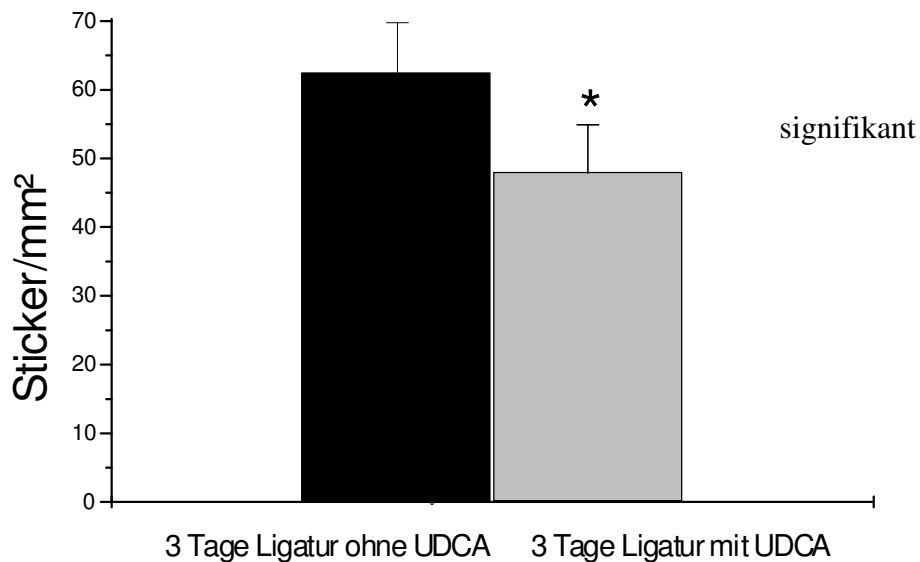
Nach dem Wilcoxon Test für ungepaarte Stichproben *p < 0,05

Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten (Roller) pro mm² ohne und mit Medikation von 10 mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe 3 n=6; Versuchsgruppe 4 n=6).

Die mit UDCA behandelte Versuchsgruppe zeigt bezüglich der temporär adhärenenten Leukozyten pro mm² signifikante Unterschiede gegenüber der unbehandelten Gruppe. So wurden in der behandelten Gruppe 50,67 ± 9,41 Roller pro mm² gezählt. In der unbehandelten Gruppe fanden sich hingegen mit 78 ± 3,9 Roller pro mm² eine deutlich höhere Anzahl an Rollern.

Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten/mm² (Sticker) der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der in vivo Mikroskopie. Die Mikroskopie wurde 3 Tage nach Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 10 Tagen. (Versuchsgruppen 3 und 4)

Abb.12:



Nach dem Wilcoxon Test für ungepaarte Stichproben *p < 0,05

Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten (Sticker) pro mm² ohne und mit Medikation von 10 mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe3 n=6; Versuchsgruppe 4 n=6).

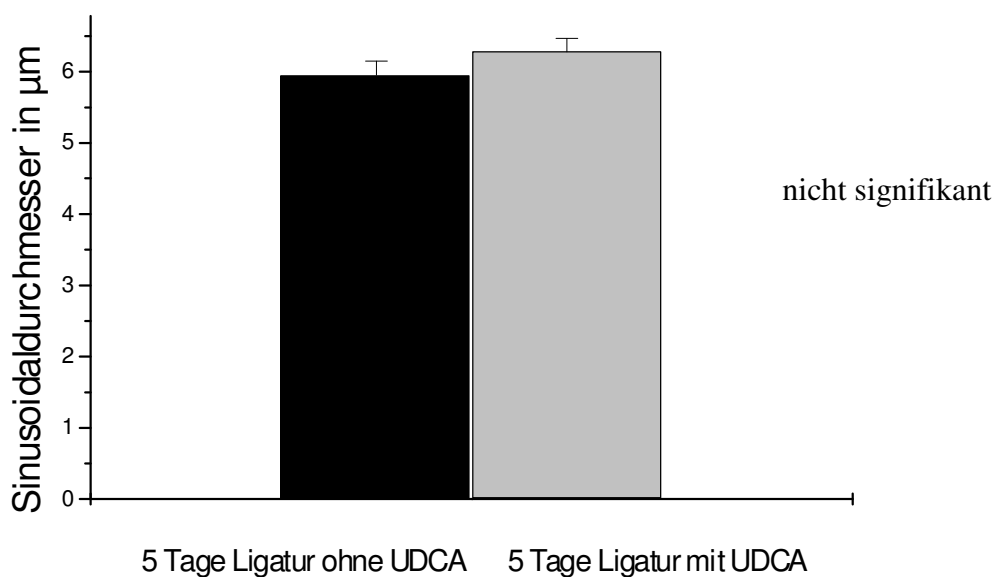
Bezüglich der Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten zeigten sich in den Versuchsgruppen signifikante Unterschiede. Die Gruppe, die eine Medikation mit UDCA erhielt, wies mit 47,83 ± 7,08 deutlich weniger Sticker/mm² auf, als die unbehandelte Gruppe mit 62,5 ± 7,23 Sticker/mm²

3.2.3 5 Tage Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus

Sinusoidaldurchmesser der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der *in vivo* Mikroskopie. Die Intravitalmikroskopie wurde 5 Tage nach Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 12 Tagen.

(Versuchsgruppen 5 und 6)

Abb.13:

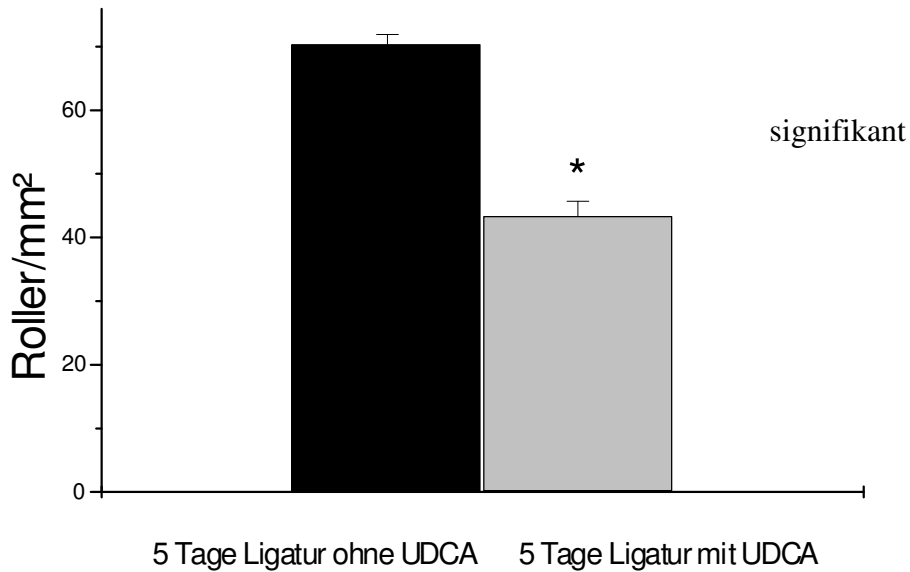


Durchmesser der Sinusoide in μm ohne und mit Medikation von 10mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe 5 n=6; Versuchsgruppe 6 n=6).

Die durchschnittliche Breite der Sinusoide wies in beiden Gruppen nur geringfügige Unterschiede auf. So betragen in der mit UDCA behandelten Gruppe der Sinusoidaldurchmesser $6,2 \pm 0,19 \mu\text{m}$ gegenüber $5,95 \pm 0,21 \mu\text{m}$ der unbehandelten Gruppe.

Anzahl der temporär adhärenen Leukozyten/mm² (Roller) der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der in vivo Mikroskopie. Die Mikroskopie wurde 5 Tage nach Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 12 Tagen. (Versuchsgruppen 5 und 6)

Abb.14:



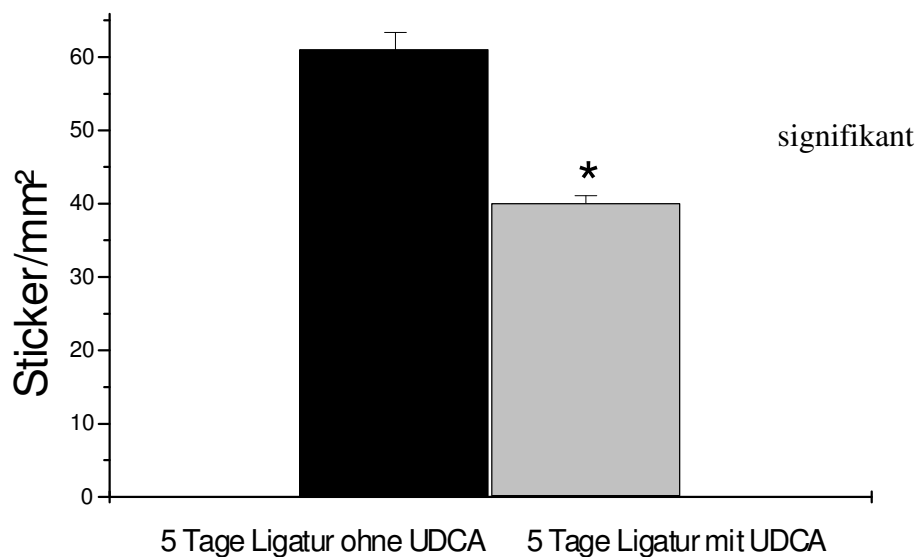
Nach dem Wilcoxon Test für ungepaarte Stichproben *p < 0,05

Anzahl der temporär adhärenen Leukozyten (Roller) pro mm² ohne und mit Medikation von 10 mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe 5 n=6; Versuchsgruppe 6 n=6).

In diesen beiden Gruppen zeigt sich ein ähnliches Ergebnis wie in den Versuchsgruppen 3 und 4. Auch hier finden sich in der mit UDCA behandelten Gruppe eine signifikant geringere Anzahl an temporär adhärenen Leukozyten/mm² von $43,33 \pm 2,33$ gegenüber der unbehandelten Gruppe, bei der durchschnittlich $70,33 \pm 1,63$ Roller/mm² gezählt wurden.

Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten/mm² (Sticker) der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der in vivo Mikroskopie. Die Mikroskopie wurde 5 Tage nach Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 12 Tagen. (Versuchsgruppen 5 und 6)

Abb.15:



Nach dem Wilcoxon Test für ungepaarte Stichproben *p < 0,05

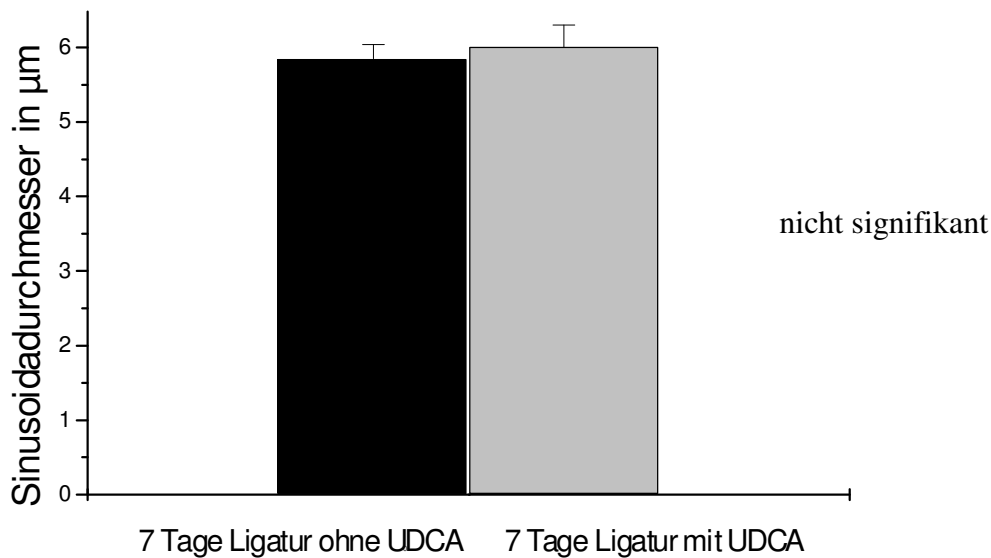
Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten (Sticker) pro mm² ohne und mit Medikation von 10 mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe 5 n=6; Versuchsgruppe 6 n=6).

Die Gruppe, die eine UDCA Medikation erhielt, zeigt eine signifikant verminderte Anzahl an permanent adhärenen Leukozyten/mm² als die unbehandelte Gruppe. Durchschnittlich wurden in der Behandlungsgruppe 40,08 ± 0,98 Sticker/mm² gezählt. In der unbehandelten Gruppe fanden sich hingegen mit 61 ± 2,37 Sticker/mm² eine deutlich höhere Zahl.

3.2.4 7 Tage Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus

Sinusoidaldurchmesser der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der in vivo Mikroskopie. Die Intravitalmikroskopie wurde 7 Tage nach Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 14 Tagen. (Versuchsgruppen 7 und 8)

Abb.16:

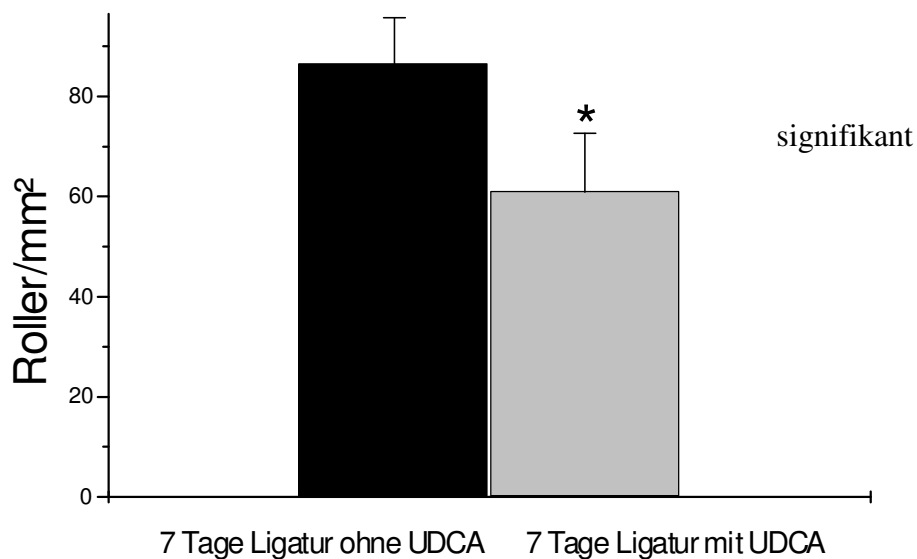


Durchmesser der Sinusoide in μm ohne und mit Medikation von 10mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe 7 n=6; Versuchsgruppe 8 n=6).

Auch in diesen Versuchsgruppen fanden sich bezüglich der Sinusoidaldurchmesser keine signifikanten Unterschiede. So zeigte sich in der mit UDCA behandelten Gruppe ein durchschnittlicher Wert von $6,02 \pm 0,29 \mu\text{m}$. Hingegen wiesen die Durchmesser der Sinusoide der unbehandelten Gruppe eine durchschnittliche Breite von $5,85 \pm 0,19 \mu\text{m}$ auf.

Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten/mm² (Roller) der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der in vivo Mikroskopie. Die Mikroskopie wurde 7 Tage nach Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 14 Tagen. (Versuchsgruppen 7 und 8)

Abb.17:



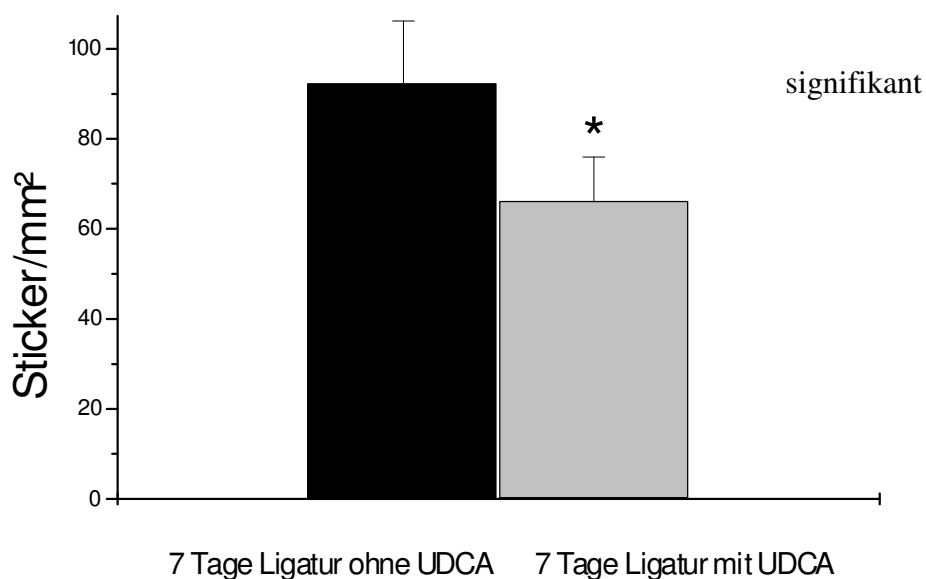
Nach dem Wilcoxon Test für ungepaarte Stichproben *p < 0,05

Anzahl der temporär adhärenenten Leukozyten (Roller) pro mm² ohne und mit Medikation von 10 mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe 7 n=6; Versuchsgruppe 8 n=6).

In diesen Versuchsgruppen wurde in der mit UDCA behandelten Gruppen eine signifikant geringere Anzahl an temporär adhärenenten Leukozyten pro mm² gefunden als in der Vergleichsgruppe. So fanden sich in der UDCA Behandlungsgruppe 60,82 ± 11,86 Roller pro mm². In der unbehandelten Gruppe im Gegensatz eine Anzahl von 86,5 ± 9,24 Roller pro mm².

Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten/mm² (Sticker) der Versuchsgruppen mit einer Prämedikation von 10 mg/kg Körpergewicht, beginnend 7 Tage vor Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus bis zum Zeitpunkt der in vivo Mikroskopie. Die Mikroskopie wurde 7 Tage nach Ligatur durchgeführt. Somit erhielten die Versuchstiere UDCA per os in einem Zeitraum von insgesamt 14 Tagen. (Versuchsgruppen 7 und 8)

Abb.18:



Nach dem Wilcoxon Test für ungepaarte Stichproben *p < 0,05

Anzahl der permanent adhärenen Leukozyten (Sticker) pro mm² ohne und mit Medikation von 10 mg/kg Körpergewicht UDCA (Versuchsgruppe 7 n=6; Versuchsgruppe 8 n=6).

Bezüglich der Zahl der permanent adhärenen Leukozyten pro mm² konnte eine Signifikanz zwischen den Gruppen bewiesen werden. Es fanden sich in der behandelten Versuchsgruppe eine Anzahl von 66 ± 9,98 Stickern pro mm². Die unbehandelte Gruppe wies mit 92,17 ± 14,02 Stickern pro mm² eine deutlich höhere Anzahl auf.

3.3 Tabellarischer Anhang

Sham-OP ohne UDCA

Nr. der Ratte	1	2	3	4	5	6	Mittelwert	Standardabw.
Sinusoidaldurchmesser/ μm	11,5	11,1	10,9	11	11,8	11,7	11,33	0,38
Roller/ mm^2	16	9	12	14	11	9	11,83	2,79
Sticker/ mm^2	18	19	12	11	12	11	13,83	3,66

Sham-OP mit 5 Tagen UDCA

Nr. der Ratte	1	2	3	4	5	6	Mittelwert	Standardabw.
Sinusoidaldurchmesser/ μm	11,3	10,9	11,9	11,2	12,2	11,5	11,5	0,48
Roller/ mm^2	12	15	8	10	12	10	11,17	2,4
Sticker/ mm^2	20	12	14	11	11	13	13,5	3,4

3 Tage Ligatur ohne UDCA

Nr. der Ratte	1	2	3	4	5	6	Mittelwert	Standardabw.
Sinusoidaldurchmesser/ μm	5,3	5,8	5,5	5,9	6,1	5,5	5,68	0,23
Roller/ mm^2	71	79	77	81	82	78	78	3,9
Sticker/ mm^2	71	53	56	70	62	63	62,5	7,23

3 Tage Ligatur mit UDCA

Nr. der Ratte	1	2	3	4	5	6	Mittelwert	Standardabw.
Sinusoidaldurchmesser/ μm	6,6	6,8	6,2	6,2	6,1	6,1	6,33	0,29
Roller/ mm^2	61	54	60	38	49	42	50,67	9,41
Sticker/ mm^2	58	47	53	38	48	43	47,83	7,08

5 Tage Ligatur ohne UDCA

Nr. der Ratte	1	2	3	4	5	6	Mittelwert	Standardabw.
Sinusoidaldurchmesser/ μm	5,6	6,1	5,8	6,0	6,1	6,1	5,95	0,21
Roller/ mm^2	71	68	72	70	69	72	70,33	1,63
Sticker/ mm^2	62	58	63	64	59	60	61	2,37

5 Tage Ligatur mit UDCA

Nr. der Ratte	1	2	3	4	5	6	Mittelwert	Standardabw.
Sinusoidaldurchmesser/ μm	6,5	6,5	6,2	6,0	6,2	6,3	6,2	0,19
Roller/ mm^2	40	43	44	47	44	42	43,33	2,33
Sticker/ mm^2	42	40	40	42	41	40	40,08	0,98

7 Tage Ligatur ohne UDCA

Nr. der Ratte	1	2	3	4	5	6	Mittelwert	Standardabw.
Sinusoidaldurchmesser/ μm	5,5	6,0	6,0	5,9	5,8	5,9	5,85	0,19
Roller/ mm^2	70	87	97	85	87	93	86,5	9,24
Sticker/ mm^2	67	107	88	92	101	98	92,17	14,02

7 Tage Ligatur mit UDCA

Nr. der Ratte	1	2	3	4	5	6	Mittelwert	Standardabw.
Sinusoidaldurchmesser/ μm	6,5	6,2	6	5,8	5,9	5,7	6,02	0,29
Roller/ mm^2	54	56	43	67	74	71	60,82	11,86
Sticker/ mm^2	84	60	59	57	68	68	66	9,98

4. Diskussion

Teil A: Einführung und allgemeiner Teil

4.1 Leukozyten-Endothel-Interaktion

Bei dem Vorgang der Adhäsion zirkulierender Zellen am Endothel der Blutgefäße handelt es sich um einen komplexen Prozess. Schon lange bestand großes Interesse daran, die mikrovaskuläre Situation und die Rolle der Leukozyten bei Entzündungsprozessen zu erforschen und zu erklären. Die Forschung an diesen molekularen Vorgängen entwickelte sich rasch weiter, als die technischen Möglichkeiten bestanden, Endothelzellen und monoklonale Antikörper künstlich herzustellen. Mit Hilfe der monoklonalen Antikörper war es möglich, diese an spezifische Rezeptoren der Leukozyten und der Endothelzellen zu binden. Durch diese Bindungen konnten an der Adhäsion beteiligte Moleküle *in vitro* inaktiviert werden. Durch diese *in vitro* Studien konnten die ersten fundamentalen Prinzipien der Leukozyten-Endothel-Interaktion gewonnen werden. Der Ablauf der Adhäsion von Leukozyten am Endothel ist jedoch *in vivo* komplexer, als es mittels isolierter Leukozyten und Endothelzellkulturen *in vitro* nachstellbar ist, da der physiologische Blutfluss und weitere beteiligte Adhäsionsmoleküle in diesen Studien keine Berücksichtigung finden (65).

Durch die technische Anwendung der Intravitalmikroskopie besteht heute die Möglichkeit, die Interaktion zwischen verschiedensten zirkulierenden Zellen und der Gefäßwand *in vivo* sichtbar darzustellen und zu quantifizieren. Durch diese technische Möglichkeit, gekoppelt mit der Anwendung verfügbarer spezifischer monoklonaler Antikörper gegenüber an der Adhäsion beteiligter Rezeptoren, kam es zu einem sprunghaften Anstieg an Studien über das Thema der Leukozyten-Endothel-Interaktion und der Mikrozirkulation.

Es gilt als gesichert, dass die Adhäsion zirkulierender Zellen am Endothel der Gefäße unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen große Ähnlichkeiten aufweisen. Zudem ist davon auszugehen, dass auch die Adhäsion und Invasion der zirkulierenden Zellen in verschiedensten Geweben und Organen einem ähnlichen Muster folgen, dass nur von einigen organspezifischen Adhäsionsmolekülen ergänzt und modifiziert wird. Klinische Bedeutung könnte eine antiadhäsive Therapie der Leukozyten-Endothel-Interaktion in der Transplantationsmedizin durch Blockierung der Entzündungs- und Abstoßungsreaktion erlangen. Auch chronische Entzündungszustände verschiedenster Organe und die

Metastasierung verschiedener Tumoren könnten günstig beeinflusst werden. Zurzeit liegen jedoch nur wenige im Humansystem durchgeführte Studien vor.

Die Leukozyten-Endothel-Interaktion zeigt einen kaskadenartigen Ablauf, wobei an dem ersten lockeren Kontakt zwischen dem Endothel der Gefäße und den Leukozyten vornehmlich Zelladhäsionsmoleküle aus der Familie der Selektine (23, 91) beteiligt sind. Bei diesen Adhäsionsmolekülen beteiligen sich vornehmlich die L-, E-, und P-Selektine. Durch diese Rezeptoren wird das Entlangrollen (rolling) der Leukozyten an den Gefäßendothelien vermittelt.

Die entscheidende Rolle für die stabile Zelladhäsion (sticking) wird den Integrinen und den Mitgliedern der Immunglobulinsuperfamilie zugeschrieben. Wichtigster Vertreter unter den Integrinen ist LFA-1, das vornehmlich auf Leukozyten exprimiert wird. Von den Endothelzellen nimmt im besonderen Maße das Zelladhäsionsmolekül ICAM-1 an der Vermittlung der stabilen Bindung teil. Diese Moleküle werden nach vorhergehender Ausschüttung von Triggersubstanzen wie z.B. Zytokinen synthetisiert und exprimiert.

Zu Beginn der Zelladhäsionskaskade verlassen die sich um die eigene Achse rotierenden Leukozyten den zentralen Blutfluss und nähern sich den Endothelzellen der Gefäßwand. Dieser Prozess wird als Margination bezeichnet. Folgend beginnt die Phase des Leukozytenrollens (rolling) entlang der Gefäßwand. Leukozytenrolling kann man als eine niedrig affinitive adhäsive Interaktion zwischen dem vaskulären Endothel und den Leukozyten beschreiben und ist in allen Geweben zu beobachten, die physikalischen oder chemischen Reizen ausgesetzt sind. In diesem Zustand beträgt die Geschwindigkeit der Leukozyten im Blutfluss zwischen 5 und 300 $\mu\text{m/s}$, wohingegen Erythrozyten in der Regel eine Geschwindigkeit von 1-3 mm/s aufweisen (196, 104).

Das rolling der Leukozyten wird durch spezifische Glykoproteine hervorgerufen, die zur Familie der Selektine gehören und sich im Aufbau sehr ähneln. L-Selektine, auch LAM-1 (leucocyte adhesion molecule-1) genannt, werden nur auf der Oberfläche von Leukozyten exprimiert. E-Selektin wird auf durch Zytokinen aktivierten Endothelzellen exprimiert. E-Selektin wird auch als ELAM-1 (endothelial leucocyte adhesion molecule-1) bezeichnet.

P-Selektine werden nach Aktivierung von Endothelien und Plättchen auf diesen exprimiert (120).

Als Liganden besitzen die Selektine lange Domänen aus Karboanhydratasen, die die Bindungen zwischen den beteiligten Adhäsionsmolekülen hervorrufen. Zudem stellen noch die Tetrasaccharide Sialyl-Lewis_x (SLe_x) und Sialyl-Lewis_a (SLe_a) bedeutende Liganden für die Bindung aller Selektine dar (179, 92).

Eine direkte Interaktion der Selektine findet zwischen den auf den Leukozyten exprimierten L-Selektinen und den P- und E- Selektinen, die sich auf den Gefäßendothelien finden, statt (153, 151). Dieser lockere Kontakt kann reversibel sein oder weitere Adhäsionsmoleküle induzieren, wodurch eine stabile Zelladhäsion zwischen Leukozyten und Endothelzellen resultieren kann. Werden keine weiteren Integrin aktivierenden Substanzen freigesetzt, lösen die Leukozyten den lockeren Kontakt, um mit dem Blutfluss weiter zu zirkulieren (2, 91).

Das Leukozytenrollen wird auch durch chemische Metabolite induziert. Eine besondere Bedeutung werden hier den Superoxiden (35, 49, 51), Lactoferrin (11), Histamin (10, 86), Interleukin-1 (IL-1) (140), hydrogen Peroxyden (118) Indometacin (198), Tumornekrose-Faktor- α (TNF- α) (23, 202), Endotoxinen (170) und bakteriellen Lipopolysacchariden (LPS) (48) zugeschrieben. Histamin ist in der Lage, schon nach wenigen Minuten eine Interaktion zwischen Leukozyten und Endothel hervorzurufen, wobei Interleukin-1 mehrere Stunden benötigt, um denselben Prozess zu aktivieren. Auch die Ischämie-Reperfusion (50) induziert ein verstärktes Leukozytenrollen.

In experimentellen Studien konnte die Beteiligung der verschiedenen Selektine an der Leukozyten-Endothel-Interaktion bewiesen werden (105, 197). Hierzu wurden monoklonale Antikörper (DREG 2000) benutzt, die die L-Selektine der Leukozyten besetzten, wodurch eine starke Reduktion des spontanen Rollens der Leukozyten in Venolen des Mesenteriums von Ratten und Kaninchen resultierte. Auch durch monoklonale Antikörper, die sich spezifisch an die P-Selektine banden, konnte eine Reduktion von über 90% der spontanen Rollerrate erreicht werden (39). Da die P-Selektine in den Weibel-Palad-Körperchen und den α -Granula (119) der Endothelzellen gespeichert werden, hielt diese Reduktion jedoch nur ca. 20 Minuten an. Die monoklonalen Antikörper konnten nur an den zum Zeitpunkt der Injektion bereits an der Zelloberfläche exprimierten Selektinen binden. Die von der Zelle neu exprimierten Moleküle blieben unbesetzt, sodass diese wieder an der Interaktion teilnehmen konnten.

Histamin hingegen ist ein effektives Stimulans für die Expression von P-Selektinen auf dem Endothel. Histamin ist ein wichtiges Substrat für die Rekrutierung von Leukozyten am Beginn einer Entzündung. Schon 15 Minuten nach Histamineinwirkung wird der in den Weibel-Palad-Körperchen gespeicherte Pool an P-Selektinen an die Endothelzelloberfläche transloziert. Am Mesenterium der Ratte konnte durch die Histamineinwirkung eine Zunahme von Rollers, eine Geschwindigkeitsreduktion der Leukozyten und eine Zunahme an adhärierenden Leukozyten festgestellt werden (10). Wurden die P-Selektine und die Sialyl-Lewis_x unter Histamineinfluss blockiert, sank die Anzahl der Rollers drastisch. Histamin scheint bei der Interaktion von P-Selektinen der Gefäßendothelien und die Sialyl-Lewis_x der Leukozyten einen proadhäsiven Effekt auszuüben.

Die E-Selektine werden auf der Oberfläche unaktivierter Endothelzellen nicht beobachtet, auch besteht kein vorhandener Pool innerhalb der Zelle. Durch Stoffe wie Interleukin-1, Tumornekrose-Faktor-1 (23, 202) und bakterielle Lipopolysaccharide (48) werden die E-Selektine transkriptional hochreguliert und auf der Oberfläche exprimiert. Ca. 3 Stunden nach Aktivierung durch Zytokine erreicht die Anzahl der E-Selektine auf der Oberfläche der Endothelzellen das Maximum, um nach 8 Stunden den Grundwert wieder zu erreichen.

P-Selektine werden noch 12 Stunden nach Aktivierung auf der Endothelzelloberfläche beobachtet, weshalb man diesen eine wichtigere Rolle bei dem Leukozytenrollen zuschreibt.

Durch das Leukozytenrollen entsteht ein enger Kontakt zwischen Leukozyten und dem Gefäßendothel. Dieser Prozess ermöglicht, dass Leukozyten durch Substanzen von den Endothelzellen wie zum Beispiel dem plättchenaktivierenden Faktor (PAF) oder von Substanzen von außerhalb der Gefäße liegenden Zellen aktiviert werden. Es findet sich in der Literatur eine Vielzahl an Hinweisen, dass das Leukozytenrollen notwendig für eine folgende feste Adhärenz am Endothel ist. In verschiedenen Studien konnte auch gezeigt werden, dass eine positive Korrelation zwischen der Ausprägung des Leukozytenrollens und der nachfolgend festen Adhäsion der Leukozyten in Venolen des Rattenmesenteriums besteht (106). Durch die experimentelle Nutzung von monoklonalen Antikörpern, die verschiedene verantwortliche Rezeptoren für das Rollen inhibierten, konnte in verschiedenen Entzündungsmodellen ebenfalls die Adhärenz der Leukozyten am Endothel stark vermindert werden (112, 127).

Durch monoklonale Antikörper, die spezifisch das L-Selektin der Leukozyten besetzten, konnte auch nach chemotaktischer Stimulation nicht nur das Rollen am Gefäßendothel, sondern auch die Leukozytenadhäsion stark vermindert werden (105, 106). Wurden Venolen

okkludiert oder sistierte der Blutstrom mit nachfolgender Stase, so war es den Leukozyten möglich, mit dem Endothel eine feste Adhärenz einzugehen.

Zumeist führt das Entlangrollen der Leukozyten in den Venolen im entzündeten Gewebe zu einer festen Bindung mit der Oberfläche des Endothels. Dies führt zu einer hoch affinitiven adhäsiven Interaktion zwischen den Leukozyten und dem Endothel. Dieser in der Literatur als sticking, feste Adhäsion oder Adhärenz bezeichnete Prozess zeichnet sich durch das Fehlen von weiterer Bewegung der Leukozyten am Endothel aus. Die in den meisten Studien benutzte Definition der Adhärenz am Endothel beträgt 30 Sekunden oder mehr (58), wobei der Zeitraum in verschiedenen Studien unterschiedlich gewählt wird.

Entzündungsreize sind maßgeblich an der festen Adhäsion von Leukozyten am Endothel verantwortlich. Auch Bakterienprodukte und Substanzen wie zum Beispiel der plättchenaktivierende Faktor (37, 87), C5a (5), akute systemische Hypoxie (122), Monochloramine (111), Endotoxine (123), Indometazin (8), Ischämie-Reperfusion (58, 95), Aspirin (9), Zigarrettenrauch (96), hydrogen Peroxyde (111) und Leukotriene B4 (32, 84) führen zu einer erhöhten Anzahl der adhärierenden Leukozyten am Endothel. Die meisten dieser Substanzen waren ebenfalls in der Lage, eine Adhärenz von isolierten Leukozyten an Gefäßendothelzellkulturen hervorzurufen (65). Es ist davon auszugehen, dass diese Produkte einen direkten Effekt auf Leukozyten, Endothelzellen oder auf beide ausüben, wodurch die Adhärenz ausgelöst wird.

Eine Studie beschreibt, dass nach der Infusion von den Entzündungsmediatoren, wie zum Beispiel Leukotrien B4 (LTB4) oder dem plättchenaktivierenden Faktor (PAF) eine bedeutende Zunahme von adhärenenten Leukozyten innerhalb von 10 Minuten auftrat, in der die maximale Anzahl an Stickern nach 30-60 Minuten zu beobachten war (32, 37).

Leukozyten tragen auf ihrer Oberfläche β 2-Integrine. Hierbei handelt es sich um Glykoproteinkomplexe, die sich maßgeblich an der festen Adhäsion am Gefäßendothel beteiligen. Es wurden mehrere Adhäsionsmoleküle aus der Familie der β 2-Integrine gefunden, die als CD11/CD18 bezeichnet werden. Diese Adhäsionsmoleküle bestehen aus drei heterodimeren Glykolproteinen. Jedes dieser Glykoproteine setzt sich aus einer α -Untereinheit CD11a, CD11b oder CD11c und einer nichtkonvalenten β -Untereinheit CD18 zusammen (77, 120).

Das Adhäsionsmolekül CD11a/CD18 wird von allen Leukozyten auf ihrer Oberfläche exprimiert, wohingegen CD11b/CD18 vornehmlich von den Monozyten, den Makrophagen und den Granulozyten exprimiert wird. Beide Adhäsionsmoleküle können auf der Oberfläche von nichtaktivierten Zellen nachgewiesen werden, die bei Auftreten von Entzündungsmediatoren zu einer schnellen Adhärenz am Endothel der Gefäße führen.

Entzündungsmediatoren sind zudem in der Lage, intrazellulär gespeicherte Adhäsionsmoleküle vom Typ CD11b/CD18 aus dem bestehenden Pool an die Oberfläche gelangen zu lassen. Diese zusätzliche Expression von CD11b/CD18 führt in kürzesten Zeiträumen zu einer festeren Adhärenz der Leukozyten. Durch monoklonale Antikörper gegen β 2-Integrine konnte ihre Wichtigkeit als Adhäsionsmoleküle bewiesen werden.

Im Tierversuch wurden monoklonale Antikörper genutzt, die spezifisch an die CD18 Untereinheit banden und diese inhibierten. Nach der Stimulation der Leukozyten mit C5a (5), H₂O₂ (111), PAF (87, 208), LTB₄ (32, 208), Monochloraminen (111) und Ischämie – Reperfusion (88,139) war es möglich, alle drei CD11/CD18 Adhäsionsmoleküle in ihrer Funktion zu hemmen. Dies führt zu einer drastischen Reduktion der Adhärenz von Leukozyten am Endothel der Venolen. Diese erhobenen Ergebnisse mit C5a, PAF und LTB₄ stimmten mit Ergebnissen anderer Studien überein, die beweisen konnten, dass diese Entzündungsmediatoren zu einer starken Zunahme der Expression von CD11/CD18 auf der Oberfläche von isolierten Leukozyten führten (77). Nach der Injektion der gegen CD18 gerichteten Antikörper konnte der antiadhärente Effekt der Antikörper über einige Stunden beobachtet werden (85). Durch wiederholte Injektionen über einen Zeitraum von drei Tagen konnte eine fast völlige Abwesenheit von Granulozyten im entzündeten Gewebe erreicht werden (7).

Auch nach stattgefunder Adhärenz der Leukozyten am Endothel konnte durch CD18 spezifische Antikörper eine drastische Reduktion festhaftender Leukozyten in vivo hervorgerufen werden (84, 87). Hierzu wurde in das Mesenterium einer Katze PAF infundiert. Später erfolgte dann eine Infusion von CD18 spezifischen monoklonalen Antikörpern, wodurch die Anzahl der adhärierenden Leukozyten in den Venolen stark sank.

Da die drei Integrine die gleiche β -Untereinheit besitzen, aber aus verschiedenen α -Untereinheiten (CD11a, CD11b und CD11c) aufgebaut sind, musste die Rolle der α -Untereinheiten durch spezifisch gegen diese Moleküle gerichtete Antikörper geklärt werden. Hier wurde in verschiedenen Studien herausgefunden, dass jedes dieser drei Heterodimere eigene Aufgaben in verschiedenen Entzündungen und Entzündungsstadien wahrnimmt (77).

In einer Studie wurde die Adhärenz der Leukozyten durch Infusion von C5a induziert. Anschließend erfolgte die Gabe von monoklonalen Antikörpern, die spezifisch an die CD11a und CD11b Moleküle banden (5). Hierbei zeigten die gegen CD11a gerichteten Antikörper eine ähnliche Wirksamkeit wie die gegen die CD18 Moleküle gerichteten Antikörper. Durch die CD11b spezifischen Antikörper konnte lediglich eine Reduktion der Leukozytenadhärenz am Endothel von ca. 50% hervorgerufen werden. Aus diesen Ergebnissen wurde geschlussfolgert, dass die CD11a/CD18 Expression und Aktivierung für die durch C5a induzierte Adhärenz der Leukozyten am Endothel eine wichtigere Aufgabe als CD11b/CD18 einnimmt.

Wurde die Leukozytenadhärenz durch Mediatoren wie zum Beispiel PAF, LTB₄ (208) oder nach Ischämie-Reperfusion (88) induziert, dann übernahm CD11b/CD18 die wichtigere Rolle. Hier konnte durch Injektion von Antikörpern gegen CD11b eine ähnlich starke Reduktion der Leukozytenadhäsion nachgewiesen werden wie nach Nutzung von spezifischen Antikörpern gegen CD18.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass die Beteiligung der verschiedenen α -Untereinheit von CD11/CD18 an der festen Leukozytenadhäsion vom jeweiligen Stimulus abhängig ist. Über den Einfluss des CD11c/CD18 Heterodimer auf die Abläufe in vivo sind bisher keine aussagekräftigen Ergebnisse gewonnen worden. Auch konnte der zugehörige Ligand bis heute nicht eindeutig bestimmt werden.

Als Ligand für CD11a/CD18 und CD11b/CD18 konnte ICAM-1 nachgewiesen werden. Bei ICAM-1 (intercellular cell adhesion molecule-1) handelt es sich um ein Adhäsionsmolekül, welches fünf verschiedene extrazelluläre Domänen aufweist, wobei die α -Untereinheit von CD11a/CD18 spezifisch an die erste Domäne (36) und die α -Untereinheit von CD11b/CD18 spezifisch an der dritten Domäne des ICAM-1 bindet (113, 193).

ICAM-1 wird auf verschiedenen Zellen exprimiert, zu denen Fibroblasten, Epithelzellen und vor allem die Endothelzellen gehören. Werden die Endothelzellen durch verschiedene

Zytokine und Endotoxine stimuliert, so kommt es auf der Endothelzelloberfläche durch Synthese und Expression zu einer starken Zunahme von ICAM-1 (77). Diese Expression von ICAM-1 tritt langsamer auf, hält aber länger vor als zum Beispiel die Expression der Selektine auf den Leukozyten (22). Durch diese erhöhte ICAM-1 Expression kommt es zu einer starken Leukozytenadhärenz, wobei das Maximum der ICAM-1 Expression nach fünf Stunden erreicht ist und sich eine Erhöhung von ICAM-1 an der Endothelzelloberfläche noch 24 Stunden nach Stimulation durch Zytokine nachweisen lässt (68, 149).

Nach der Injektion von monoklonalen Antikörpern gegen die ICAM-1 Adhäsionsmoleküle konnte eine starke Reduktion der Leukozytenadhärenz nach Stimulation durch PAF, Leukotrien b₄ (208), Ischämie-Reperfusion (88) und Indometazin (189) beobachtet werden.

In einigen Entzündungsmodellen konnte bewiesen werden, dass die gegen ICAM-1 Adhäsionsmoleküle gerichtete monoklonale Antikörper eine gleich starke Wirkung bezüglich der Reduktion der adhärenen Leukozyten am Endothel bewirken wie die gegen CD18 gerichteten spezifischen Antikörper. Ein wichtiger Unterschied zwischen diesen Antikörpern zeigt die Auswirkung auf bereits adhärierende Antikörper. Die Antikörper, die sich gegen ICAM-1 richteten, waren nicht wie die gegen CD18 gerichteten Antikörper in der Lage, die bestehende Bindung zwischen CD11/CD18 und ICAM-1 zu lösen (5).

Die Endothelzelloberfläche weist noch ein zweites, für die Leukozyten-Endothel-Interaktion wichtiges Adhäsionsmolekül auf, genannt ICAM-2. Dieses Adhäsionsmolekül weist einen sehr ähnlichen Aufbau wie das ICAM-1 auf, besitzt jedoch nur zwei extrazelluläre Domänen. Diese beiden Domänen sind den endständigen Domänen des ICAM-1 Moleküls zu 34% homolog (180). Im Unterschied zu ICAM-1 besitzt ICAM-2 nur eine Ligandenbindungsstelle für CD11a/CD18. ICAM-2 stellt somit den zweiten Endothelzellliganden für dieses Integrin. ICAM-2 wird im unstimulierten Zustand der Endothelzelle ebenfalls auf deren Oberfläche exprimiert. Die Expression kann aber durch Endothelzellaktivierung nicht gesteigert werden (33). ICAM-2 zeigt zum CD11a/CD18 Adhäsionsmolekül eine wesentlich geringere Affinität als ICAM-1, weshalb ICAM-1 eine wichtigere Rolle bei der Adhäsion der Leukozyten einnimmt (34).

Für die folgende Migration der Leukozyten ins Gewebe werden chemotaktische Substanzen verantwortlich gemacht (2). Ein wichtiges der wenigen bekannten Adhäsionsmoleküle hierfür stellt das PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1) dar. Dieses Molekül wird

vorwiegend an Kontaktstellen zwischen zwei benachbarten Endothelzellen exprimiert (175). Untersuchungen zeigten, dass Leukozyten einer enormen Verformung unterliegen, um zwischen diesen interendothelialen Kontaktstellen ins Gewebe einwandern zu können (24). Es wird auch die Möglichkeit diskutiert, dass aktivierte Leukozyten lysierende Enzyme ausschütten, die es den Leukozyten erlauben, die Endothelzelle zu durchwandern. Die weitere Migration der Leukozyten nach transendothelialer Passage in das Gewebe wird wahrscheinlich durch chemotaktische Substanzen reguliert (190).

4.2 Ätiologie und Pathogenese der akuten biliären Pankreatitis

Beim Menschen unterscheidet man zwischen einer akuten- und chronischen Pankreatitis. Die akute Pankreatitis wird untergliedert in eine ödematöse- und eine hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis. Die in den meisten der Fälle gutartig verlaufende ödematöse Form der akuten Pankreatitis wird bei ca. 90 % der Patienten beobachtet und weist eine Letalitätsrate von ca. 1% auf. Die akute hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis tritt bei ca. 10% der Patienten auf. Bei dieser Form wird eine Letalität von bis zu 50% beschrieben (59, 78).

Histologisch lassen sich bei der akuten Pankreatitis Läsionen unterschiedlichen Schweregrades finden. Die ödematöse Pankreatitis ist charakterisiert durch interstitielle Ödembildungen und limitiert auftretenden peripankreatischen Fettgewebnekrosen. Zumeist werden keine Parenchymnekrosen beobachtet. Es besteht jedoch zu jederzeit die Möglichkeit, dass sich aus einer ödematösen- eine hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis entwickelt. Diese zeichnet sich durch schwere Parenchymnekrosen, intra- und peripankreatischen Fettgewebnekrosen und Parenchymlutungen des Organs aus. Diese Schädigungen können diffus oder lokalisiert beobachtet werden. Infolge dieser Läsionen können bei der akuten Pankreatitis Störungen der endokrinen- und exokrinen Funktion des Organs resultieren, die sich in der Dauer und Stärke der Organstörung erheblich unterscheiden. Zeitlich kann die akute Pankreatitis eine einmalige oder rezidivierende Erkrankung darstellen. Selten resultiert aus der akuten Form die chronische Pankreatitis.

Als ätiologische Faktoren der Pankreatitis sind vornehmlich Erkrankungen der Gallenwege mit Obstruktion und Reflux (akute biliäre Pankreatitis) und der äthyltoxische Missbrauch zu

nennen. In ca. 20-40% der Fälle wird der Alkoholabusus und in ca. 50-60% der Fälle wird die Gallenwegserkrankung als Entstehungsursache angeschuldigt (181). In der Literatur werden ca. 10-30% der Pankreatitiden als idiopathisch beschrieben, wobei es sich nach neueren Untersuchungen oftmals möglicherweise doch um eine biliäre Genese handelt (94, 166). Weitere ätiologisch relevante Faktoren der Pankreatitisentstehung sind zum Beispiel Tumoren, Operationen und Traumen, Medikamente und Toxine, endokrine- und metabolische Störungen, immunologische Prozesse, Ischämien, Mündungsanomalien des Pankreasganges und genetische Faktoren.

Bis heute konnte der Entstehungsmechanismus der Pankreatitis nicht ausreichend geklärt werden. Man geht davon aus, dass ein multifaktorieller Prozess die Pankreatitis auslöst. Es konnte auch durch eine Vielzahl an tierexperimentellen Studien keine einheitliche Pathogenese der Pankreatitisentstehung herausgearbeitet werden, sodass auch verschiedene Therapieansätze, die auf der Basis von Überlegungen über den Pathomechanismus der Pankreatitisentstehung entstanden, zu keinem nennenswerten Erfolg führten (181). Auch bleibt unklar, welche pathogenetischen Ursachen den Übergang einer ödematösen in eine hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis auslöst.

In der Genese der Pankreatitis unterscheidet man zwischen einer frühen und einer späten Phase. In der Pathogenese geht man von einem definierten Agens wie zum Beispiel Alkohol oder einer Choledocholithiasis aus, durch den der Beginn und der Verlauf der Erkrankung in Gang gesetzt wird.

In der frühen Phase spielt die azinäre Zelle eine zentrale Rolle. Es kommt zu einer Freisetzung und Aktivierung von Verdauungsenzymen (vornehmlich Trypsin) aus den Zymogengranula, durch die eine Schädigung der azinären Zelle auftritt. Hierdurch werden verschiedene Entzündungsmediatoren freigesetzt, durch die eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität mit folgendem Pankreasödem resultiert. Durch dieses Ödem werden weitere Entzündungsfaktoren freigesetzt, die zu einer weiteren Verstärkung des Ödems mit Ischämie und Zelluntergang im Pankreas führen.

Stunden nach der frühen Phase schließt sich die späte Phase an. Diese zeichnet sich durch weiteres Fortschreiten der Entzündungsvorgänge und des Zelluntergangs im Pankreasgewebe aus. Es kommt zu Allgemeinsymptomen wie heftigen gürtelförmigen Abdominalschmerzen, Übelkeit und Erbrechen, Meteorismus, Hypotonie, Fieber und dem kapillären Durchlässigkeitssyndrom. Organstörungen an Darm, Lunge, Niere, und Leber bis zum Multiorganversagen und Tod können die Folge sein.

Die eindeutige Trennung zwischen der frühen und der späten Phase ist bisher jedoch noch nicht ausreichend verstanden und definiert worden.

Die azinäre Zelle synthetisiert proteolytische Enzyme. Diese Enzyme werden zum Schutz des Pankreasgewebes als inaktive Enzymvorstufen (sogenannte Proenzyme oder Zymogene) synthetisiert, die erst im Duodenum durch die dort gebildeten Enterokinasen aktiviert werden. Zu den Zymogenen werden Trypsinogen, Chymotrypsinogen, Proelastase und Procarboxypeptidase gezählt. Eine vorzeitige Aktivierung vor Erreichen des Duodenums stellt eine Schlüsselrolle in der Genese der akuten Pankreatitis dar (132). Wird das Trypsinogen bereits intrapancreatisch in Trypsin umgewandelt, so ist dieses Trypsin in der Lage, weitere Zymogene intrapancreatisch zu aktivieren. Dies kann letztendlich in der Autodigestion des Pankreas enden. Zudem scheint es von Bedeutung, ob die Proenzyme intra- oder extrazellulär der azinären Zelle aktiviert werden.

Zur experimentellen Induktion einer Pankreatitis werden sekretorisch wirkende Substanzen verwendet. Sekretagoge wie zum Beispiel CCK und Carbachol sind in der Lage, die Zymogene bereits intrazellulär zu aktivieren und verursachen hierdurch starke Zellschädigung der azinären Zellen.

Bombesin führt zu einer extrazellulären Zymogenaktivierung, aus der keine Pankreatitis resultiert (57). Zur Sekretion der Zymogene scheint ein intaktes Zytoskelett der azinären Zelle essentiell zu sein. Hohe Konzentrationen von CCK und Carbachol scheinen dieses Zytoskelett jedoch zu zerstören, wodurch aktivierte Zymogene retiniert werden und diese zu der beschriebenen Schädigung der azinären Zelle führen. Bombesin scheint im Gegensatz zu keiner Zerstörung des Zytoskeletts zu führen, weshalb die Sekretion der Zymogene erhalten bleibt (137, 138).

Verschiedenste Mechanismen sind in der Lage, die Zymogene zu aktivieren. Die bedeutendsten Mechanismen sind die Autoaktivierung sowie die Aktivierung durch Cathepsin B von Trypsinogen zu Trypsin. Calcium sowie ein im sauren Bereich liegenden pH-Wert führen zu einer Förderung der Autoaktivierung des Trypsinogens (47), während Proteaseinhibitoren die Zymogenaktivierung inhibieren.

In experimentellen Studien diese Thematik betreffend, wurden unter anderem isolierte Pankreasazini benutzt und in diesen eine Generierung von Trypsin mittels CCK ausgelöst. In diesen Modellen wurden verschiedene Enzyminhibitoren wie zum Beispiel Benzamidin und FUT-175 auf ihre Wirkung bezüglich der Zymogenaktivierung hin untersucht (55, 167). Diese

Untersuchungen lassen vermuten, dass lysosomale Hydrolysen eine bedeutende Rolle bei der Generierung von Trypsin spielen (167).

Durch verschiedene Mechanismen hat die azinäre Zelle die Möglichkeit, eine Zellschädigung durch frühzeitig aktivierte Zymogene in Grenzen zu halten. Von Bedeutung ist hierbei primär die Verhinderung der vorzeitigen Aktivierung der Verdauungsenzyme. Erfolgt jedoch trotzdem eine frühzeitige Aktivierung, so kann die azinäre Zelle eine Wirkungsabschwächung induzieren, indem die aktivierten Enzyme zusammen mit Trypsininhibitoren in sekretorische Granulas eingeschlossen (71, 168) und inaktiviert werden. Übersteigt jedoch das Trypsin-Level den Level des Trypsininhibitors, so ist der Schutzmechanismus überfordert und es resultiert eine Entzündung des Pankreasgewebes.

Tritt eine vorzeitige Zymogenaktivierung auf, so betrifft die Entzündungsreaktion zunächst die azinäre Zelle (132). Diese schüttet im Beginn Botenstoffe aus, die zu einer Aktivierung des Komplementsystems, einer Aggregation von Thrombozyten und neutrophilen Granulozyten und Bildung freier Radikale führt. Sobald die Schädigung der azinären Zelle einen bestimmten Grad überschritten hat, ist sie nicht mehr in der Lage, die aktivierten Zymogene zurückzuhalten. In diesem Fall erfolgt eine systemische Ausschwemmung der aktivierten Zymogene in den Blutkreislauf. Im Blut befinden sich mit dem α 1-Antitrypsin und dem Antichymotrypsin potente Inhibitoren. Diese Inhibitoren besitzen die Fähigkeit, sich an die aktivierten Zymogene zu binden, wodurch diese dann durch das Retikulo-Endotheliale-System (RES) phagozytiert werden können. Bei einigen Pankreatitiden wurden Fälle beschrieben, bei denen diese Inhibitoren vermindert waren. Die Ursache hierfür ist nicht bekannt (93).

Zu Beginn der Pankreatitis kommt es frühzeitig zu einem starken Anstieg der Zytokine (56, 134). Da das generierte Trypsin die Faktoren C3a und C5a des Komplementsystems aktiviert, resultiert eine Chemotaxis von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten, die zusätzlich Zytokine wie Tumornekrose-Faktor α (TNF- α), Plättchen-aktivierenden Faktor (PAF), Interleukin-1 (IL-1) und NO ausschütten. Obwohl die azinären Zellen selbst in der Lage sind TNF- α , PAF und IL-1 zu sezernieren, wird der Zytokinspiegel durch die chemotaktisch angelockten Entzündungszellen um ein vielfaches erhöht (62, 33). Hierdurch wird die lokale und systemische Entzündungsreaktion zusätzlich verstärkt. Experimentell konnte an isolierten Azinuszellen nachgewiesen werden, dass vornehmlich TNF- α an der Apoptose der Zellen beteiligt ist (61).

Innerhalb der ersten Stunde einer experimentell induzierten Pankreatitis wird ein starker Anstieg von PAF, TNF- α und IL-1 beobachtet. Hierbei scheint das IL-6, dessen Produktion durch IL-1 induziert wird, mit der Schwere der Pankreatitis gut zu korrelieren (101, 125). Die alleinige experimentelle Verabreichung von Zytokinen verursacht keine Pankreatitis. Daher scheint die Zymogenaktivierung die Grundvoraussetzung in der Pathogenese der Pankreatitis darzustellen.

Es sind viele verschiedene ätiologische Faktoren in der Genese der akuten Pankreatitis bekannt, wobei die Folgen für das Organ bei den verschiedenen Faktoren gleichartig sind. Aus bisher ungeklärter Ursache findet eine vorzeitige Aktivierung und Retention proteolytischer Enzyme in den azinären Zellen statt, die zu einer Autodigestion mit starker Zellschädigung führen können. Diese azinäre Zellschädigung führt zur Ausschüttung von Zytokinen mit Aktivierung des Komplementsystems. Durch eine chemotaktisch ausgelöste Emigration von Entzündungszellen, die ebenfalls Zytokine ausschütten, wird die Entzündung noch verstärkt. Im Pankreas können in schweren Verläufen hierdurch bedingt Parenchymnekrosen, Fettgewebnekrosen, intra- und peripankreatische Ödeme und Hämorrhagien in dem Organ und in seiner Umgebung auftreten. Da die verschiedenen Faktoren in der Genese der Pankreatitis an dem Organ ein sehr ähnliches Bild zeigen, versucht die moderne Forschung einen positiven therapeutischen Effekt an einem Punkt in der Entzündungskaskade zu nehmen, um hierdurch den Entzündungsprozess zum Stillstand zu bringen. Eine spezielle Therapie auf einzelne Ätiologien scheint nicht notwendig zu sein, da diese im Pankreas zu einer gleichartigen Schädigung führen.

4.3 Tiermodelle

Um mehr Erkenntnisse in der Pathogenese und Fortschritte in der Therapie der akuten biliären Pankreatitis zu gewinnen, wäre es am sinnvollsten, Untersuchungen am erkrankten Menschen durchzuführen. Dies ist aus verschiedenen Gründen nicht möglich.

Untersuchungen des Pankreas über die Physiologie, Pathophysiologie und Histologie sind wegen der anatomisch ungünstigen Lage des Organs extrem erschwert.

Da die akute Pankreatitis meist erst in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert wird, ist es oftmals sehr schwierig oder unmöglich, die Pathomechanismen auf zellulärer Ebene zu einem späteren Zeitpunkt noch nachzuvollziehen.

Beim Menschen sind der Schweregrad und der Verlauf der akuten Pankreatitis sehr verschiedenartig.

Ethische Faktoren

Aus den oben genannten Gründen wird ersichtlich, dass für Studien über die akute Pankreatitis Tiermodelle unabdingbar sind. Es wurden verschiedenste Modelle herausgearbeitet, um mehr Erkenntnisse über die Pathogenese und neue Therapieformen über die akute Pankreatitis zu gewinnen. Trotz großer Bemühungen zeigten sich nur teilweise klinische Übereinstimmungen der akuten Pankreatitis zwischen dem Versuchstier und dem Menschen.

Im Tiermodell besteht die Möglichkeit, die akute Pankreatitis durch invasive und nichtinvasive Methoden auszulösen.

Ein großer Vorteil der nichtinvasiven gegenüber den invasiven Modellen liegt in der guten Reproduzierbarkeit. Zudem sind die nichtinvasiven Tiermodelle zumeist kostengünstiger.

Als sehr nachteilig stellt sich heraus, dass die Mechanismen der Induktion der akuten Pankreatitiden im Tiermodell nicht mit den Mechanismen der Pankreatitiden beim Menschen vergleichbar sind.

Mittels des nichtinvasiven CDE-Modells (choline deficiente ethionine model) lässt sich an jungen weiblichen Mäusen eine letal endende hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis erzeugen. Hierzu werden die Tiere mit einer ethioninhaltigen Diät, in der kein Cholin enthalten ist, ernährt (40). Die in diesem Tiermodell resultierende Pankreatitis gleicht sehr der menschlichen Pankreatitis, obwohl der pathogenetische Bezug zum Menschen nicht vorhanden ist.

Um eine ödematöse Pankreatitis bei der Ratte auszulösen, können Pankreasenzyme benutzt werden. Hierbei wird das Caerulein, ein Cholecystokininanalogon, den Tieren als intravenöse Infusion in supramaximaler Dosis verabreicht. Der Nachteil des Caerulein-Modells besteht

darin, dass die häufigsten auslösenden Ursachen in der Genese der menschlichen Pankreatitis keine Berücksichtigung finden.

In der Klinik wird eine Pankreatitis oftmals durch eine Obstruktion eines Gallensteins im Ductus choledochus oder durch eine Einklemmung des Steins an der Papilla vateri vor der Mündung in das Duodenum hervorgerufen (1). Hierbei werden verschiedene Entstehungsmechanismen der Pankreatitis durch die Gallensteinwanderung diskutiert. In den meisten invasiven Versuchstiermodellen wird diese klinische Situation nachgeahmt um hierdurch eine akute biliäre Pankreatitis zu induzieren.

Opie vertrat die Meinung, dass die durch einen Gallenstein verursachte Obstruktion im Bereich der Papilla vateri sowohl zur Abflussbehinderung des Pankreassekrets als auch der Galle führt. Da der Mensch einen „common-channel“ besitzt, besteht die Möglichkeit, dass durch den retrograden Rückfluss die Galle in das Pankreasgangsystem fließt und hieraus eine Pankreatitis resultiert (141). Dies scheint jedoch sehr unwahrscheinlich zu sein, da der Druck des Pankreasgangsystems signifikant über dem Druck des Gallengangsystems liegt. Aus dieser Gegebenheit lässt sich folglich schließen, dass durch die „common-channel“ Obstruktion ein Reflux des Pankreassekretes in das Gallengangsystem wahrscheinlicher wäre als umgekehrt (141). Daher wird heute unter anderem aus diesen Gründen die Theorie von Opie eher kritisch beurteilt (97, 100).

Die meisten Versuchstiermodelle basieren auf der pathophysiologischen Vorstellung, dass bedingt durch eine Gallensteineinklemmung ein Abflusshindernis für das Pankreassekret resultiert. Hierdurch entsteht ein Rückstau, der zu einer Schädigung der azinären Zellen mit Austritt von Sekret in das Pankreasgewebe führt (99, 142, 165). Um diesen Zustand herbeizuführen wird bei den Versuchstieren der Pankreasgang ligiert.

Unter Nutzung der invasiven retrograden Pankreasganginjektion wurde bei verschiedenen Versuchstierspezies der Versuch unternommen, eine Pankreatitis mittels unterschiedlicher Testsubstanzen zu induzieren. Hierzu wurden häufig Pankreasenzyme wie zum Beispiel Trypsin, Elastase (54), Phospholipase A (172) und Lipase (3) angewandt. Hierbei stellte sich heraus, dass die Lipase eine bedeutende Rolle bei (129) der Zerstörung der Zellmembranen zu spielen scheint.

Aber auch Galle (19, 38) oder die Kombination von Galle und Trypsin (42, 45, 74) wurden verwandt. In Studien wurde herausgefunden, dass die Toxizität der nichtkonjugierten Gallensäuren die Toxizität der konjugierten Gallensäuren bei weitem übersteigt (64).

Durch Substanzkombinationen wie zum Beispiel Galle mit Trypsin lässt sich der Ausprägungsgrad der Pankreatitis noch verstärken. Für den Schweregrad der Pankreatitis ist daher die Zusammensetzung der injizierten Substanzen von entscheidender Bedeutung, zudem scheint ebenfalls der Injektionsdruck bei der retrograden Injektion eine Rolle zu spielen (30).

Die am besten standardisierte und am häufigsten verwendete Substanz zur Induktion der Pankreatitis stellt heute das Natriumtaurocholat dar. Durch die retrograde Pankreasganginjektion mit dieser Substanz entwickeln auch Ratten ausgeprägte hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitiden mit hohen Mortalitätsraten (76, 173). Histologisch finden sich im Pankreas Ödembildungen, Hämorrhagien und Nekrosen.

Als pathogenetische Ursache wird der Detergenzieneffekt der Gallensäuren auf die Zellmembranen angeschuldigt. Die Ursache der Pankreatitis könnte jedoch auch auf den erhöhten Injektionsdruck zurückgeführt werden (204, 205).

Bei der invasiven prograden Pankreasganginjektion wird bei der Katze eine Kanüle in den Pankreasschwanz operativ implantiert. Über diese eingebrachte Kanüle perfundiert man unter physiologischen Druck die Testsubstanz in das Pankreas. Die Substanz kann in diesem Modell frei durch den nichtobstruierten Pankreasgang in das Duodenum abfließen (165).

Um die Durchlässigkeit des Gangepithels zu erhöhen, wird den Tieren zu Beginn Äthanol oder Gallensalze injiziert. Durch die nachfolgende Perfusion von Pankreasenzymen wird die akute ödematöse Pankreatitis induziert (46). Wird anstelle der Pankreasenzyme Prostaglandin E2 verwandt, so ist es möglich, eine akute hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis bei den Tieren hervorzurufen. (201).

Die Vorteile dieses Modells bestehen in dem Wegfall der retrograden Pankreasganginjektion, die möglicherweise selbst durch eine druckbedingte Pankreasgangläsion eine Pankreatitis auszulösen vermag.

Der Nachteil der prograden Pankreasganginjektion liegen in den hohen Kosten für das Versuchstier Katze und in der aufwendigen und zeitintensiven Präparation der Kanülierung des Pankreasschwanz.

Mittels einer chirurgischen Pankreasgangligatur im Tiermodell lässt sich am besten die Situation nachahmen, wie sie klinisch bei der Obstruktion des Pankreasganges durch Gallensteine, Tumoren oder anderen obstruktiv wirkenden Ereignissen entsteht.

Durch eine zusätzliche Pankreasstimulation resultiert hieraus ein Ödem der Bauchspeicheldrüse (41), das auf den erhöhten Druck im Pankreasgangsystem zurückzuführen ist (42, 155). Lichtmikroskopisch zeichnet sich das Ödem durch Erweiterungen der Azinuslumina und Pankreasductuli aus, in dem sich zudem entzündliche Infiltrate nachweisen lassen. Serologisch wird ein Anstieg der Pankreasenzyme beobachtet (41, 150).

Elektronenmikroskopisch wird in den azinären Zellen die Bildung von autophagen und crinophagen Vakuolen mit Aufstau von nicht sezernierten Zymogengranula beobachtet. Intrazellulär finden sich zudem Störungen des Transportes und der Sekretion von lysosomalen Enzymen und von Verdauungsenzymen (71, 169). Luminal resultiert eine Abnahme der Mikrovilli. Intraluminal kommt es zu einer Vorwölbung apikaler Zellmembranen.

Diese pathologischen Veränderungen werden sowohl in der Frühphase der klinischen sowie auch in der Frühphase der experimentell induzierten Pankreatitis beobachtet.

Das oben beschriebene histopathologische Bild der akuten Pankreatitis lässt sich jedoch nicht gleichartig ausgeprägt bei allen Versuchstieren nachweisen. Bei einigen Versuchstieren, wie zum Beispiel der Ratte, resultiert durch die alleinige Ligatur des Pankreasganges eine chronische Atrophie der Bauchspeicheldrüse (199, 200, 98).

Ein häufig genutztes Versuchstier stellt die Ratte dar. Ratten und Menschen zeigen bezüglich der biliopankreatischen Anatomie bedeutsame Unterschiede. Die Ratte besitzt einen gemeinsamen biliopankreatischen Gang, der als Ductus pancreatico-choledochus bezeichnet wird. Dieser besteht aus vier hepatischen Gallengängen, die sich zu einem gemeinsamen extrahepatischen Gang vereinigen. Der Ductus pancreatico-choledochus verläuft inmitten des Pankreasgewebes und nimmt hier multiple interlobuläre Pankreasgänge auf, um schließlich als gemeinsamer biliopankreatischer Gang in das Duodenum zu münden. Eine zusätzliche Besonderheit der Rattenanatomie ist das Fehlen der Gallenblase.

Es hat sich herausgestellt, dass verschiedene Modelle der Pankreatitisinduktion bei der Ratte dem Modell der akuten biliären Pankreatitis des Menschen nur ungenügend entsprechen. Zu

diesem Modellen werden die Caerulein induzierte akute ödematöse Pankreatitis (89, 128), das CDE-Modell (choline deficiente ethionine model) mit resultierender hämorrhagisch-nekrotisierender Pankreatitis (98, 109) und die retrograde Pankreasganginjektion toxischer Gallensalze oder anderer toxischer Substanzen(98, 130)gezählt.

Die aus diesen Studien gewonnenen Ergebnisse zur Pathogenese der akuten biliären Pankreatitis sind sehr umstritten.

Im Gegensatz zur Ratte hat das aus Nordamerika stammende Opossum eine dem Menschen sehr ähnliche Anatomie mit einem „common-channel“. Durch die chirurgische Ligatur des langen gemeinsamen Ausführungsganges des Ductus choledochus und des Pankreashauptganges wird die Situation beim Menschen mit akuter biliärer Pankreatitis am besten nachgeahmt. Durch die Ligatur des „common- channel“ resultiert beim Opossum eine akute hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis (164). Diese fulminant verlaufende Form der experimentell induzierten Pankreatitis verläuft bei den Opossums innerhalb von 14 Tagen zu 100% tödlich (25, 177).

Aufgrund dieser anatomischen und pathophysiologischen Ähnlichkeit zum Menschen eignet sich das Opossum hervorragend für Studien zur Ätiologie und Pathogenese der akuten biliären Pankreatitis (98). Das Opossum-Modell scheint zur Zeit eines der besten Tiermodelle zu sein, um diese Form der Pankreatitis pathogenetisch zu erfassen. Dies ist eines der Hauptgründe, weshalb das Rattenmodell in der letzten Zeit immer unpopulärer geworden ist und das Opossum in verschiedenen Studien benutzt wird.

Samuel et al. untersuchten in einer Studie den Verlauf und die Histologie der akuten biliären Pankreatitis im Vergleich zwischen der Ratte und dem Opossum. Zudem führte er eine Analyse der Tierhaltungskosten zwischen den Tierspezies durch.

In beiden Tierspezies wurde eine Ligatur des Gallen- und Pankreasganges vorgenommen. Im Vergleich zur Kontrollgruppe entwickelte sowohl Opossum, als auch die Ratte eine akute Pankreatitis mit einem signifikanten Anstieg des histologischen Scores und der Amylasekonzentration im Serum. In der histologischen Untersuchung wiesen die Pankreata beider Gruppen ähnliche Veränderungen auf. Histologisch konnte in beiden Tierspezies Azinuszellvakuolen, Nekrosen azinärer Zellen und Infiltrationen von Entzündungszellen in ähnlichem Ausmaß nachgewiesen werden. Ein Unterschied zeigte sich bezüglich der fehlenden Fettgewebsnekrosen im Rattenpankreas. Auch Elektronenmikroskopisch zeigten

beide Tierarten im gleichartigen Ausmaß autophagische Vakuolen und eine Vergrößerung des endoplasmatischen Retikulums.

Bezüglich der Kostenanalyse der Tierhaltung zwischen Ratte und Opossum stellten Samuel et al. heraus, dass die Haltung eines Opossums um das Zehnfache kostenintensiver ist, als die Haltung einer Ratte. Aufgrund dieses wichtigen Aspektes stellt sich die Frage, ob durch den Unterschied der Schwere der Pankreatitis zwischen Ratte und Opossum die Verwendung des teureren Opossums gerechtfertigt ist.

Sie kommen zu dem Schluss, dass im Fall von Pilotstudien und Zeiträumen kurzer Ligaturen das Rattenmodell vorzuziehen ist.

Wenn es sich allerdings um ausgereifere Studien zur Untersuchung der Pathogenese der akuten biliären Pankreatitis handelt, so ist das Opossum das Tiermodell der Wahl. Dies ist letztendlich durch die anatomische Verwandtschaft zum Menschen begründet.

Seidel und Pfeffer entwickelten das Tiermodell der verschlossenen Duodenalschlinge (152, 176). Diese Methode soll im Tiermodell den duodenalen Reflux in den Pankreashauptgang als Ätiologie der akuten Pankreatitis nachstellen. An diesem Modell muss jedoch die Tatsache kritisch beurteilt werden, dass der duodenale Reflux in der Pathogenese der menschlichen Pankreatitis keinen Stellenwert besitzt (69, 97, 100). Zur Durchführung dieses Modells wird beim Hund der getrennt vom Pankreasgang in das Duodenum mündende Ductus choledochus ligiert und die Galle über eine eingebrachte Kanüle in das Jejunum umgeleitet. Nachfolgend wird das Duodenum am Pylorus und distal der Einmündungsstelle des Pankreashauptganges verschlossen. Durch diese Methode entwickelt sich im Hundemodell eine akute hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis, bei der der Reflux des Duodenalsekretes in den Pankreashauptgang das auslösende Agens der Pankreatitis darstellt, da durch eine gleichzeitige Pankreasgangobstruktion die Pankreatitis bei Duodenalverschluß verhindert wird (108).

Im kombinierten Modell werden invasive und nicht invasive Methoden miteinander kombiniert. Hierbei werden im Rattenmodell eine Ligatur des Pankreasganges und eine intraperitoneale Alkoholinstillation vorgenommen. Die mit einer Stimulation des Pankreas durch Cholezystokinin und Sekretin kombiniert wird. Als Folge entwickelt sich bei der Ratte eine Pankreatitis mit disseminierten Nekrosen (69).

4.4 Ursodeoxycholsäure (UDCA)

Ursodeoxycholsäure ist eine atoxische Gallensäure, die in niedrigen Konzentrationen im menschlichen Organismus vorkommt (103). In der Klinik wird Ursodeoxycholsäure (UDCA) vornehmlich genutzt, um in den Cholesterinkreislauf einzugreifen. Ursodeoxycholsäure (UDCA) wird in vielen Fällen mit Chenodeoxycholsäure (CDCA) zum Auflösen von Cholesterin-Gallensteinen angewandt. Zudem bewirkt es eine Hemmung der Synthese, der biliären Ausscheidung und der intestinalen Resorption von Cholesterin. Der klinische Erfolg hängt maßgeblich von der Größe des Steins ab, die Erfolgsquote liegt heute bei ca. 40%.

In verschiedenen klinischen Studien wurde belegt, dass UDCA den Verlauf und die Prognose anderer Erkrankungen günstig beeinflussen kann. Zu nennen sind hier vor allem der Formenkreis der cholestatischen Lebererkrankungen, wie z.B. die primär biliäre Zirrhose (PBC), die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) und die Schwangerschaftscholestase.

Pharmakotherapeutisch bedeutsam ist dabei die Senkung der cholangio- und hepatozellulären Toxizität der Galle durch Anreicherung von UDCA im Gallensäurepool. In Studien konnte belegt werden, dass mit steigendem Grad der Hydrophobität der Gallensäuren die Hepatotoxizität ansteigt (6, 12, 175). Da Ursodeoxycholsäure zwei Hydroxyl-Gruppen besitzt, steigert UDCA die Hydrophilie im Gallensäurepool. Auch werden durch UDCA hydrophobe Gallensäuren von den Hepatozytenmembranen entfernt und somit der Cholestase entgegengewirkt. Dadurch werden die Hepatozyten geschützt und die Leberfunktion verbessert. Neben diesen Effekten stabilisiert UDCA die hepatozellulären Membranen (53, 70, 124), steigert die Choleresis und den kanalikulären Gallefluss (43, 206) senkt die intestinale Absorption toxischer Gallensäuren (184), beeinflusst die zelluläre Signaltransduktion, wirkt protektiv gegen Mitochondrienschädigungen und weist immunmodulatorische Effekte auf. Goldtuna et al. (60) konnten darüber hinaus zeigen, dass Ursodeoxycholsäure die Gallensalztoxizität reduziert, da UDCA die Loslösung von Cholesterol und von Phospholipiden aus der Zellmembran verhindert. Dies könnte ein weiterer Grund für die hepatoprotektive Wirkung von Ursodeoxycholsäure sein.

Cholestatische Lebererkrankungen führen zu einem vermehrten Anfall von toxischen Gallensäuren in der Leber, durch die das Organ Schaden nimmt. Die Gallensäuren führen zu charakteristischen Veränderungen der Leber: Popper beschrieb federige Degenerationen im Leberläppchen und hydropische Schwellung und Granulierung periportal Hepatozyten.

Besonders evident sind diese Schäden bei extrahepatischen, weniger bei intrahepatischen Cholestasen. Nach heutigem wissenschaftlichem Kenntnisstand können diese Veränderungen, die durch toxische Gallensäuren hervorgerufen werden, durch die nichttoxische Gallensäure Ursodeoxycholsäure (UDCA) vermindert werden. In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass UDCA auch positiven Einfluss auf immunmodulatorische Vorgänge nimmt.

In der Klinik wird UDCA vornehmlich zur Therapie der beiden cholestatischen Krankheiten, der primär biliären Zirrhose (PBC) und der primär sklerosierenden Cholangitis (PSC), eingesetzt.

Bei der PBC, auch nichteitrig destruirende Cholangitis genannt, handelt es sich um eine in ca. 90% der Fälle bei Frauen auftretende Autoimmunerkrankung. Diese äußert sich in einer häufig irreversiblen, progressiven Destruktion der intrahepatischen Gallengänge. Hieraus resultiert eine Cholestase, die oftmals in einer Leberzirrhose endet. Die genaue Ursache für die Entstehung der Erkrankung konnte bis heute nicht gesichert werden.

Histologisch zeichnet sich die primär biliäre Zirrhose (PBC) durch Gallengangsläsionen mit dichten Rundzellinfiltraten und Granulombildungen, späterer auftretenden duktulären Proliferationen und einem letztendlichen Übergang in eine Fibrose aus. Die besten Behandlungsergebnisse zeigten sich im Beginn der primär biliären Zirrhose (PBC), wobei UDCA in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung keinen therapeutischen Effekt mehr erbringen konnte (185, 110). Mehrere Studien untersuchten die Auswirkungen von UDCA auf die primär biliäre Zirrhose (PBC) (16, 29, 67, 73, 107, 136, 160, 191).

Die Studie von Heathcote et. al. (67) konnte nachweisen, dass unter UDCA-Therapie die periportale Ballonierung der Hepatozyten abnahm. Zudem wurde nur eine geringgradige Verminderung der portalen Gallekanälchen beobachtet.

Poupon et. al. (160) wies in seiner Studie eine Besserung sämtlicher histologischer Parameter, mit Ausnahme der Fibrose, in der Leber nach.

Combes et. al. (29) fanden in ihrer Studie heraus, dass nur bei Patienten mit einem Serumbilirubin von unter 2 mg/dl eine signifikante Besserung der Leberhistologie auftrat.

Die Studie von Lindor et. al. (107) hingegen konnte keinen Einfluss von UDCA auf die Leberhistologie nachweisen.

Turner et. al. (191) beschrieben in ihrer Studie, dass unter zweijähriger UDCA -Therapie ca. 15% der Patienten eine Leberzirrhose entwickelten, während bei Patienten unter

Plazebobehandlung in ca. 57% eine Zirrhose auftrat. Die Studie wies jedoch aufgrund einer zu geringen Fallzahl keine Signifikanz auf.

Die aufgeführten und weitere Studien fanden zudem heraus, dass UDCA eine Besserung des Serumbilirubins, der alkalischen Phosphatase (AP), der γ -Glutamyltranspeptidase (γ -GT), der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT) und der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) führt. Eine Metaanalyse der bisher publizierten Studien ergab eine signifikante Besserung der Histologie der Leber unter Ursodeoxycholsäure-Therapie

Infolge der Behandlung von Patienten mit primär sklerosierender Cholangitis (PSC) konnte eine signifikante Besserung der AP, der γ -GT, der SGOT, der SGPT und teilweise auch des Serumbilirubins beobachtet werden (20, 26, 66, 135, 183, 186). Bei der PSC handelt es sich um eine chronisch fibrosierende Gallenwegsentzündung, die in ca. 70% der Erkrankungshäufigkeit bei Männern auftritt. Die Patienten mit PSC leiden in ca. 75% der Fälle gleichzeitig an einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung wie zum Beispiel der Colitis ulcerosa. Die Ätiologie ist ebenfalls unbekannt, man zählt die PSC aber zu den Autoimmunerkrankungen.

Mikroskopisch zeigt die Erkrankung perlenschnurartige Veränderungen mit multiplen Stenosen mit teils prästenotischen Aufweitungen der intra- und oftmals auch extrahepatischen Gallengänge. Histologisch zeigt sich zumeist in kleinen und mittelgroßen Gallengängen das typische Bild mit periduktaler zwiebelschalenartiger Fibrose mit vorwiegend entzündlichen, mononukleären Infiltrationen. Ein wesentliches Leitsymptom ist die Cholestase. Im Endstadium mündet die PSC in eine dekompensierte Leberzirrhose. Langzeitstudien zufolge entwickeln ca. fünf bis zehn Prozent der Patienten mit PSC ein Gallengangskarzinom.

In der Studie von Stiehl et al. (186) zeigte sich nach Medikation mit Ursodeoxycholsäure eine signifikante Abnahme der zellulären Infiltration in den Periportalfeldern und eine Abnahme der Leberenzyme im Serum. Eine weitere Studie von Stiehl et al. (182) konnte nachweisen, dass UDCA die Stenosen größerer Gallengänge jedoch nicht zu verhindern vermag.

In Langzeitbehandlungen der primär sklerosierenden Cholangitis wurde nachgewiesen, dass unter UDCA Medikation und Dilatation von größeren Stenosen der Gallengänge gute Behandlungsergebnisse erzielt werden konnten.

Auch in der Studie von Beuers et al. (20) konnte eine Besserung der Histologie und eine Senkung des Bilirubins im Vergleich zu der Placebogruppe beobachtet werden.

In den Studien von Chazouilleres et al. (26) und O'Brien et al. (135) verbesserten sich die klinischen Symptome Pruritus und Abgeschlagenheit sowie die Serumwerte.

Durch Medikation von Ursodeoxycholsäure bei Patienten mit zystischer Fibrose konnte bei den hepatobiliären Komplikationen Erfolge erzielt werden. Bei der zystischen Fibrose, auch Mukoviszidose genannt, handelt es sich um eine genetische Erkrankung. Diese Erkrankung zeichnet sich durch eine abnorm gesteigerte Sekretion von Schleim aus. Hierdurch resultieren chronisch obstruktive Lungenerkrankungen, Pankreasinsuffizienzen, intestinale Obstruktionen und biliäre Zirrhosen.

Durch fortschreitende Erfolge bei der Behandlung der pulmonalen Komplikationen, mit denen die Überlebenszeit bei den Erkrankten angestiegen ist, kommt es gehäuft zu extrapulmonalen Komplikationen. Die fokale biliäre Zirrhose wird heute bei ca. 25-30% der an zystischer Fibrose erkrankten Patienten beobachtet (163). Durch eine abnormale Gallensekretion resultieren in den Gallekanalikululi Plugs, die zu einer Obstruktion und einer Cholestase in der Leber führen. Hierdurch kommt es zur Entwicklung von Gallengangsstrikturen, die eine fokale oder auch multilobuläre Leberzirrhose hervorrufen können(52, 143).

Cotting et al. konnten durch Medikation mit Ursodeoxycholsäure bei Patienten mit zystischer Fibrose einen Rückgang der alkalischen Phosphatase und der Transaminasen im Serum, sowie eine Verbesserung der Leberfunktion beobachten (31).

Colombo et al. (28) zeigten in ihrer Studie, dass mit steigender Dosis von Ursodeoxycholsäure die Leberenzyme im Serum zunehmend rückläufig waren und sich UDCA zunehmend im Gallensäurepool anreicherte.

Die Medikation von UDCA bei Patienten mit Hepatitis hat keinen bedeutenden Einfluss auf den Erkrankungsverlauf gezeigt. Es konnte eine Besserung der Leberwerte bei chronischer Hepatitis B und C erzielt werden, jedoch blieb die Leberhistologie davon unbeeinflusst.

Bei der Schwangerschaftscholestase führte laut der Studie von Palma et al. (148) die UDCA-Therapie nachweislich zu einer Besserung der Leberwerte und des Juckreizes bei den Patientinnen. Wurde die UDCA-Therapie frühzeitig beendet, so trat ein erneuter Juckreiz mit Verschlechterung der Cholestase auf.

Der Einsatz von UDCA bei kindlichen cholestatischen Lebererkrankungen scheint ebenfalls gerechtfertigt zu sein. Der Studie von Balisteri et al. (15) zufolge konnte bei Kindern mit dem Bayler- und Alagille-Syndrom durch Ursodeoxycholsäure eine Besserung des Juckreizes und der Leberwerte erreicht werden. Bei biliärer Atresie konnte eine Rückläufigkeit der Leberwerte beobachtet werden (131, 152, 192).

Anhand der aufgeführten Studien wird ersichtlich, dass Ursodeoxycholsäure nicht zu einer Heilung cholestatischer Erkrankungen führt. Anhand einer Vielzahl von Studienergebnissen wird jedoch ersichtlich, dass UDCA eine Besserung der Symptomatik, einer positiven Beeinflussung der Histologie und zu einer Senkung der serologischen Leberwerte beitragen kann.

Teil B: Diskussion und Bewertung der Ergebnisse

4.5 In vivo Mikroskopie

Die in vivo Mikroskopie stellt eine hervorragende Methode dar, um am lebenden Organismus Parameter der Mikrozirkulation zu beurteilen. Die Lebersinusoide sind die kleinsten Einheiten in der Leberstrombahn. Durch die Nutzung der in vivo Mikroskopie besteht die Möglichkeit, diese Einheiten am lebenden Tier optisch darzustellen und zu untersuchen. Im Gegensatz zu fixierten Präparaten können die Morphologie und das Verhalten von im Blut zirkulierenden zellulären Bestandteilen direkt sowie auch in ihrem weiteren Verlauf beurteilt werden.

Die Grundvoraussetzung für eine aussagekräftige experimentelle Studie mittels der in vivo Mikroskopie ist die standardisierte Versuchsdurchführung. Einen entscheidenden Einfluss auf die korrekte Interpretation der Ergebnisse stellt hierbei die Behandlung der Leber während der Auslagerung und der Durchführung der in vivo Mikroskopie dar. Durch unsachgemäße Behandlung der Leber werden Mikroblutungen und Leukozyten-Endothel-Interaktionen induziert, die zu starken Verfälschungen der Messergebnisse führen.

Bei der Durchführung der in vivo Mikroskopie wird zwischen der Epifluoreszenzmikroskopie und der Transilluminationsmikroskopie unterschieden. In dieser Studie wurde die Epifluoreszenzmikroskopie verwandt, da durch diese Methode die Möglichkeit besteht, die gesamte Unterfläche des linken Leberlappens zu untersuchen. Hingegen bietet die Transilluminationsmikroskopie nur die Möglichkeit, die Untersuchung auf den Leberlappenrand zu beschränken.

Obgleich die Epifluoreszenzmikroskopie nur die oberflächliche hepatische Mikrozirkulation zu beurteilen vermag, wird davon ausgegangen, dass diese repräsentativ für die gesamte Mikrozirkulation der Leber ist. Dies liegt darin begründet, dass kaum morphologische Unterschiede zwischen oberflächlich und tief liegender Läppchen bestehen.

Mittels eines Videorekorders wurden pro Versuchstier zehn zufällig ausgewählte Bezirke auf einem Videoband aufgezeichnet. Diese Bezirke wurden zu einem späteren Zeitpunkt bezüglich der Sinusoiddurchmesser, der Anzahl der temporär adhärenen Leukozyten und der

Anzahl der permanent adhärennten Leukozyten ausgewertet. Die Auswertung erfolgte mittels eines Computers und der Bildverarbeitungssoftware analySIS Pro 2.11.007.

Sinusoide und Sinusoidaldurchmesser

Die Hepatozyten sind zu Leberzellbalken angeordnet und verlaufen radiär auf die Zentralvene zu. Zwischen diesen Leberzellbalken verlaufen die Lebersinusoide, die in die Vena centralis einmünden. Die Sinusoide sind ca. 400-500 μm lang und besitzen keine Basalmembran. Die Wände der Sinusoide werden von flachen, fenestrierten Endothelzellen gebildet. Zwischen den Endothelien und den Hepatozyten liegt der Disse-Raum. Das Blutplasma aus den Sinusoiden kann durch interzelluläre Spalten und Poren der Endothelzellen in den Disse-Raum gelangen. Hier findet dann eine Interaktion zwischen Plasmabestandteilen wie z.B. Albumin, Lipoproteinen, Kohlenhydraten, Elektrolyten, Cholesterol und den Hepatozyten statt. Der perisinusoidale Disse-Raum weist eine Breite von ca. 0,3 - 0,5 μm auf. In ihm befinden sich die von-Kupfferschen-Sternzellen, Ito-Zellen, Fibroblasten, Kollagenfasern und Mikrovilli der Hepatozyten, die ihre Oberfläche erheblich vergrößern.

Die Endothelzellen nehmen zudem eine wichtige Aufgabe bei der Leukozyten-Endothel-Interaktion wahr. Nach der Aktivierung durch Zytokine finden sich auf der Endothelzelloberfläche Selektine. Diese Adhäsionsmoleküle führen zu einem lockeren Kontakt mit Adhäsionsmolekülen der Leukozytenoberfläche. Durch diese Interaktion wird das Rollen der Leukozyten entlang des Endothels hervorgerufen.

Weitere wichtige Adhäsionsmoleküle der Endothelzelle sind das ICAM-1 und ICAM-2. Diese Moleküle finden sich ebenfalls nach Aktivierung verstärkt an der Oberfläche und führen durch Interaktion mit Leukozytenadhäsionsmolekülen zu einer festen Bindung der Leukozyten am Endothel.

Die Lebersinusoide werden in drei verschiedene Bereiche untergliedert. Dabei handelt es sich um den periportal-, midzonal-, und perizentralen Bereich. Die verschiedenen Bereiche weisen unterschiedliche Durchmesser auf. Für diese intravitalmikroskopische Studie wählten wir den midzonalen Bereich aus. Um die Mittelwerte der Sinusoidaldurchmesser im midzonalen Bereich korrekt bestimmen zu können, ist es von großer Bedeutung, die Messungen stets an identischer Stelle durchzuführen. Eine Möglichkeit hierfür bietet die Methode, die Messung stets im gleichen Abstand von der Zentralvene vorzunehmen (75, 81).

Ursachen für falsche Messergebnisse können aus verschiedenen Messpunkten innerhalb der Sinusoide, aus abweichenden Kalibrierungen und aus subjektiven Messfehlern entstehen.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Sinusoidaldurchmesser in den Kontrollgruppen. Bei den Kontrollgruppen wurde eine mediane Laparotomie mit Mobilisierung des Ductus pancreatico-choledochus durchgeführt. Am fünften Tag nach der Mobilisierung erfolgte die in vivo Mikroskopie.

Die Gruppe, die eine Prämedikation von sieben Tagen Ursodeoxycholsäure erhielt, zeigte im Durchschnitt einen Sinusoidaldurchmesser von 11,5 μm . Die unbehandelte Gruppe wies einen Durchschnitt von 11,33 μm auf. Es fand sich somit keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Die Ergebnisse unserer Studie entsprechen den Ergebnissen der durchschnittlichen Sinusoidaldurchmesser, die Koeppel et al. (80) in ihrer Studie nachgewiesen haben. Koeppel et al. führten in ihrer Kontrollgruppe ebenfalls eine Mobilisierung des Ductus pancreatico-choledochus durch und wiesen drei Tage nach Mobilisation bei ihren intravitalmikroskopischen Messungen einen durchschnittlichen Sinusoidaldurchmesser von 11,4 μm nach.

Auch die Versuchsgruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der durchschnittlichen Sinusoidaldurchmesser zwischen den UDCA-Behandlungsgruppen und den unbehandelten Gruppen.

In den Versuchsgruppen führten wir sowohl bei den mit UDCA behandelten, als auch bei den ohne UDCA behandelten Tieren eine mediane Laparotomie mit folgender chirurgischer Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus durch. Die Tiere wurden in verschiedenen Gruppen randomisiert und zu verschiedenen Zeitpunkten in vivo mikroskopiert. Die Intravitalmikroskopie erfolgte je nach Gruppe drei, fünf oder sieben Tage nach der Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus. Die durchschnittlichen Sinusoidaldurchmesser in den behandelten und unbehandelten Versuchsgruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede, sie betrugen zwischen 5,68 und 6,28 μm .

Ein Vergleich zwischen den Kontrollgruppen und den Versuchsgruppen zeigt eine Verminderung der durchschnittlichen Sinusoidaldurchmesser von ca. 50%. Dies wird durch die Obstruktion des Ductus pancreatico-choledochus hervorgerufen. Es resultiert eine extrahepatische Cholestase. Durch diesen Gallerückstau entsteht intrahepatisch eine Drucksteigerung mit Dilatation der Kanalikuli und der größeren Gallegängen. Schon drei

Tage nach Ligatur werden sinusoidale Perfusionsminderungen, periportale Ödeme und Gallengangsproliferationen beobachtet (80). Ursächlich für den verminderten Sinusoidaldurchmesser in den Versuchsgruppen sind die hydrostatischen Druckerhöhungen in den kanalikulären Gallenwegen und die parenchymatösen Ödeme. Aus diesem Sachverhalt resultiert ein erhöhter Außendruck auf die Lebersinusoide, der die Sinusoide zusammendrückt und somit zu einer Verschmälerung des Durchmessers führt. Erwartungsgemäß konnte UDCA keine positive Beeinflussung auf den Sinusoidaldurchmesser nach bilio-pankreatischer Obstruktion nehmen, da UDCA die durch die Cholestase entstehende hydrostatische Druckerhöhung in der Leber nicht vermindern kann.

Temporär adhärente Leukozyten (Roller) in den Sinusoiden

Hierbei handelt es sich um Leukozyten, die an den Endothelzellen entlangrollen und mit diesen zeitweise in Kontakt treten (4, 18). Roller bewegen sich mit einer Geschwindigkeit $\leq 30\%$ gegenüber freifließenden Leukozyten in der Gefäßmitte. In dieser Studie wurde die Anzahl an temporär adhärenenten Leukozyten in einem Beobachtungszeitraum von 30 Sekunden angegeben (115, 116). Die Auswertung erfolgte am laufenden Videoband in 10 Feldern pro Tier.

Permanent adhärente Leukozyten (Sticker) in den Sinusoiden

Hierbei handelt es sich um Leukozyten, die im Beobachtungszeitraum länger als 20 Sekunden an den Endothelzellen der Sinusoide haften (114, 115, 116).

Die Auswertung erfolgte am laufenden Videoband in 10 Feldern pro Tier.

In dieser Studie erfolgte über die Auszählung der temporär- und permanent adhärenenten Leukozyten die Quantifizierung des hepatischen Endothelschadens. Dies bedeutet, dass ein geringer sinusoidaler Endothelschaden mit einer geringen Anzahl an temporär- und permanent adhärenenten Leukozyten einhergeht. Ein starker sinusoidaler Endothelschaden führt demzufolge zu einer hohen Anzahl an temporär- und permanent adhärenenten Leukozyten.

In dieser Studie konnten wir nachweisen, dass in den Kontrollgruppen, bei denen lediglich eine Mobilisation des Ductus pancreatico-choledochus vorgenommen wurde, keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl der temporär- und permanent adhärenenten Leukozyten in den behandelten und unbehandelten Gruppen gefunden werden konnte.

In den Versuchsgruppen wurde im Gegensatz zu den Kontrollgruppen der Ductus pancreatico-choledochus ligiert. Je nach Versuchsgruppe wurde drei, fünf und sieben Tage nach dieser Ligatur die in vivo Mikroskopie durchgeführt. Hierbei zeigte sich bei gleicher Zeitdauer der Ligatur in den mit UDCA behandelten Gruppen eine signifikant niedrigere Anzahl der temporär- und permanent adhärenen Leukozyten im Vergleich zu den unbehandelten Gruppen.

Aus diesen Ergebnissen wird ersichtlich, dass UDCA im Rattenmodell geeignet ist, die Leukozyten-Endothel-Interaktion und somit den Sinusendothelschaden nach biliopankreatischer Obstruktion zu verringern.

In verschiedensten Studien konnte im Tierversuch bewiesen werden, dass durch die regelmäßige Medikation mit UDCA die Gallengangsproliferationen und die Entzündungsreaktionen in der Leber vermindert werden kann (83, 161, 162). Auch konnte ebenfalls in klinischen Studien am Menschen gezeigt werden, dass UDCA einen positiven Einfluss auf cholestatische Lebererkrankungen und deren weiteren Verlauf ausübt (161,162).

Dieser positive Einfluss von UDCA könnte auf verschiedenen Wirkungen beruhen. Vor dem Hintergrund der Frage nach einer Möglichkeit der therapeutischen Verbesserung der RES-Funktion interessiert vor allem die ebenfalls in der Literatur beschriebene Steigerung der hepatischen Mikrozirkulation (187) sowie ein protektiver Effekt von UDCA bei durch biliäre Obstruktion bedingter Endotoxinämie (72). UDCA stabilisiert auch die hepatozellulären Membranen und bewirkt zudem eine Entfernung der toxischen hydrophoben Gallensäuren von der Hepatozytenmembran. Hierdurch werden die Hepatozyten geschützt und die Leberfunktion verbessert. Durch die geringere Entzündungsreaktion resultiert eine geringere Leukozytenadhärenz, wodurch weniger Zytokine ausgeschüttet werden und keine weiteren Leukozyten chemotaktisch angelockt werden, die die Entzündung verstärken würden.

UDCA weist ebenfalls immunmodulatorische Effekte auf. Diese Effekte bestehen aus einer Hemmung der Mastzelldegranulation, Suppression von Interleukin2 und Interleukin4, Unterdrückung der Expression von Histokompatibilitätskomplexen auf Hepatozyten und Cholangiozyten und der Erhöhung der natürlichen Killerzellaktivität. Dies führt zu einer Reduktion der Schädigung der Hepatozyten, wodurch die Entzündung verringert wird.

UDCA bewirkt darüber hinaus eine Steigerung der Choleresis und vermindert die intestinale Absorption von toxischen Gallensäuren.

Poo et al. (154) untersuchten in ihrer Studie die Auswirkung von UDCA auf eine langdauernde bilio-pankreatische Obstruktion bei der Ratte. Diese Studie fand heraus, dass Tiere unter UDCA-Therapie im Vergleich zur Placebo-Gruppe ein geringeres Lebergewicht und einen signifikant niedrigeren Portalvenendruck aufwiesen. Nur 37% der Ratten unter UDCA-Therapie mit bilio-pankreatischer Obstruktion entwickelten eine sekundäre biliäre Zirrhose, wobei bei den Tieren unter Placebogabe diese bei 80% der Versuchstiere auftrat.

Um in unserer Studie bei den Versuchstieren eine akute biliäre Pankreatitis zu erzeugen, führten wir eine mediane Laparotomie durch, suchten anschließend den Ductus pankreatico-choledochus auf und ligierten diesen darmnah. Hieraus resultierte eine von uns induzierte akute extrahepatische Cholestase mit Rückstau der Galle in die Leber und das Pankreas.

Bezüglich des bilio-pankreatischen Systems bestehen in der Anatomie bedeutende Unterschiede zwischen Mensch und Ratte. Die Ratte besitzt ein gemeinsames bilio-pankreatisches Gangsystem, das als Ductus pankreatico-choledochus bezeichnet wird. Dies setzt sich aus vier hepatischen Gallengängen zusammen, die sich zu einem extrahepatischen Gang vereinen. In diesen inmitten des Pankreasgewebe verlaufende Ductus pancreatico-choledochus drainieren multiple interlobuläre Gänge des Pankreasgewebe, sodass letztendlich ein gemeinsamer biliopankreatischer Gang in das Duodenum mündet. Zudem besitzt die Ratte keine Gallenblase.

Schon drei Tage nach der Obstruktion konnten wir eine Stauung des Ductus pankreatico-choledochus bei den Versuchstieren beobachten. Bedingt durch den Rückstau der Galle und der damit einhergehenden Retention toxischer Gallensäuren kommt es zu histologischen und zirkulatorischen Änderungen in der Leber. Die akute extrahepatische Cholestase führt zu einer Dilatation der großen Gallengänge, die sich bis in die Leberkanalikuli fortsetzt. Nach längerem Fortbestehen der Cholestase werden Gallengangsproliferationen beobachtet. Durch die hydrostatische Druckerhöhung in der Leber resultieren periportale und hepatozelluläre Ödeme (80). Die retinierten endogenen Gallensäuren scheinen die hauptsächliche Rolle bei der Leberschädigung darzustellen (124, 171, 175) Die retinierten toxischen Gallensalze können von einer Schädigung des Sinusendothel bis zu Nekrosen der Hepatozyten und Cholangiozyten führen. In entstehenden Nekrosen kann sich retinierte Galle ablagern. Bedingt durch die Sinusendothelschädigung und den Nekrosen kommt es zu Entzündungsreaktionen mit Neutrophilenadhärenz- und infiltration. An hepatischen

Mikrozirkulationsveränderungen werden Anstiege an nicht perfundierten Sinusoiden, Minderungen azinärer Perfusionen, Reduktion der Blutflussgeschwindigkeit in den Sinusoiden, Reduktion der Durchmesser der Sinusoide, Anstieg der temporär- und permanent adhären Leukozyten in den Sinusoiden und Proliferationen der von-Kupfferschen-Sternzellen (80) beobachtet. Zudem wird durch die biliäre Obstruktion eine Verminderung des RES mit starker Einschränkung der Phagozytosekapazität hervorgerufen. In unserer Studie konnten wir unter bilio-pankreatischer Obstruktion die Reduktion der Sinusoidaldurchmesser und die Zunahme der Leukozyten-Endothel-Interaktion bestätigen.

Wird die Obstruktion des Ductus pancreatico-choledochus über einen Zeitraum von vier Wochen oder länger durchgeführt, so resultiert hieraus eine ausgeprägte Fibrose, auch sekundäre biliäre Zirrhose genannt (82). Die entstehende portale Hypertension resultiert hierbei durch die zerstörte Leberarchitektur und die Reduktion der Sinusoidaldurchmesser.

In unserer Studie konnten wir eine signifikante Abnahme der temporär- und permanent adhären Leukozyten in den Sinusoiden nach bilio-pankreatischer Obstruktion unter UDCA-Medikation nachweisen.

Durch die Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus findet zudem auch ein Rückstau der Galle in das Pankreasgangsystem statt. Aufgrund des Detergentieneffektes führen die Gallensäuren zu einer toxischen Zellschädigung an den azinären Zellen. Hieraus resultiert eine Freisetzung kleiner Mengen aktivierten Trypsins. Durch diese Freisetzung beginnt eine Kaskade, bei der weitere Proenzyme intrapankreatisch aktiviert werden und diese zu Parenchymnekrosen führen. Trypsin führt zur Aktivierung des Komplementsystems und die Zellschädigungen zur Freisetzung von Zytokinen. Es resultiert eine Chemotaxis von Granulozyten und Makrophagen, die weitere Zytokine freisetzen. Es entsteht bedingt durch die erhöhte Gefäßpermeabilität ein Pankreasödem und eine fortschreitende Entzündungsreaktion im Pankreasparenchym, die bis zur vollständigen Zerstörung des Organs fortschreiten kann. Wird eine bestimmte Schwelle überschritten, resultiert eine systemische Entzündungsreaktion.

Auch im Darm werden durch die biliäre Obstruktion bedeutende Veränderungen induziert. Durch das Fehlen der Gallensäure im Darmlumen resultiert hier eine Veränderung der bakteriellen Darmflora. Es kann zu einer Überwucherung der physiologischen Darmflora mit endotoxinbildenden Bakterien und einer vermehrten Aufnahme der Endotoxine in die systemische Blutzirkulation kommen. Hieraus könnte somit ein Anstieg des Endotoxin-Spiegels im Blut resultieren (145). Da das RES in der Leber durch die biliäre Obstruktion

stark in der Funktion reduziert ist, kann hieraus eine systemische Bakteriämie mit Affektionen weiterer Organe und des gesamten Organismus resultieren.

UDCA steigert nachweislich die hepatische Mikrozirkulation (187) und vermindert den hepatischen Sinusendothelschaden. Dies konnte durch die Verminderung der Leukozyten-Endothel-Interaktion in dieser Arbeit bestätigt werden. Das RES ist zu 90% in der Leber lokalisiert. Da die Funktion des RES stark von der hepatischen Mikrozirkulation abhängig ist, haben Patienten mit Störung der hepatischen Mikrozirkulation, zum Beispiel im Rahmen eines Schocks oder einer Sepsis, ein erhöhtes Risiko einer Endotoxinämie. Eine Verbesserung der Leukozyten-Endothel-Interaktion durch UDCA lässt daher vermuten, dass hierdurch auch die Funktion des RES verbessert wird. Eine Verbesserte Prognose der Pankreatitis wäre somit möglich.

5. Zusammenfassung

Die akute Pankreatitis stellt noch immer ein Krankheitsbild mit schwer vorhersehbarem Verlauf und hoher Letalität dar. Bis heute konnte noch kein einheitliches Konzept über die exakte Pathogenese der Pankreatitis herausgearbeitet werden. Man unterteilt die akute Pankreatitis in die ödematöse- und die hämorrhagisch-nekrotisierende Verlaufsform. Die ödematöse Pankreatitis weist zumeist einen günstigen Verlauf auf, wohingegen die hämorrhagisch-nekrotisierende Form mit hoher Letalität und Multiorganversagen einhergehen kann. Ungeklärt ist, welche Faktoren diese unterschiedlichen Ausprägungsgrade der Erkrankung bestimmen. Die Therapie der akuten Pankreatitis beschränkt sich daher weitestgehend auf symptomatische Maßnahmen zur Verhinderung von Komplikationen. Um eine bessere kausale Therapierbarkeit zu ermöglichen, ist es daher notwendig, das Verständnis für die komplexen pathophysiologischen Vorgänge bei der akuten Pankreatitis zu verbessern. Die Ursachen für den unterschiedlichen Verlauf der Erkrankung sind dabei nicht nur am Pankreas selbst, sondern vor allem in Wechselwirkungen mit anderen Organsystemen zu suchen.

Eine bedeutende Rolle bei der Entstehung der akuten Pankreatitis nimmt die temporäre oder längerdauernde biliäre Obstruktion mit resultierender extrahepatischer Cholestase ein. Infolge der Abflussbehinderung des bilio-pankreatischen Gangsystems kommt es in der Leber zu einer Vielzahl an pathophysiologischen Folgen, die sich ungünstig auf den Verlauf einer Pankreatitis auswirken können. Von entscheidender Bedeutung sind hierbei die Schädigung des Sinusendothels durch die retinierten Gallensalze, die Reduktion der hepatischen Mikrozirkulation und die Einschränkung der Funktion des hepatischen retikuloendothelialen Systems (RES). Einen möglichen Ansatz, medikamentös den Sinusendothelschaden der Leber und somit eine verbesserte hepatische Mikrozirkulation und Protektion des RES zu erreichen bot die Ursodeoxycholsäure (UDCA). Bei UDCA handelt es sich um eine hydrophile Gallensäure, die seit langer Zeit beim Menschen in erster Linie auf dem Gebiet chronisch-entzündlicher Lebererkrankungen mit gutem Erfolg eingesetzt wird. Nachgewiesen ist eine positive Beeinflussung von UDCA auf den Krankheitsverlauf bei der primär biliären Zirrhose und der primär sklerosierenden Cholangitis.

Ziel dieser in vivo Studie war es, den Einfluss von Ursodeoxycholsäure (UDCA) auf die Mikrozirkulation in der Leber nach bilio-pankreatischer Obstruktion zu untersuchen. Dies erfolgte durch die Messung der Sinusoidaldurchmesser und durch die Quantifizierung des hepatischen Sinusendothelschadens mittels Auszählung der temporär- und permanent adhären Leukozyten am Sinusendothel.

Es wurden 48 männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht zwischen 200-250g auf insgesamt 8 Gruppen verteilt, wobei jede der Gruppen eine Anzahl von 6 Tieren aufwies. Bei jeder Ratte erfolgte eine mediane Laparotomie. Zusätzlich wurde bei den Tieren der Versuchsgruppen 3-8 eine chirurgische Obstruktion des Ductus pancreatico-choledochus vorgenommen.

Bei den Kontrollgruppen 1 und 2 wurde der Ductus lediglich mobilisiert. Sieben Tage vor dem Beginn der Ligatur oder der Mobilisierung erhielten die Tiere der Versuchsgruppen 2, 4, 6 und 8 zusätzlich eine tägliche Prämedikation von 10 mg UDCA pro Kilogramm Körpergewicht per os bis zum Zeitpunkt der Epilumineszenz-Intravitalmikroskopie.

Die Tiere der Gruppen 3 und 4 wurden drei Tage, die Tiere der Gruppen 5 und 6 fünf Tage, und die Tiere der Gruppen 7 und 8 sieben Tage nach Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus in vivo mikroskopiert.

Die Kontrollgruppen 1 und 2, bei denen lediglich eine Mobilisierung des Ductus durchgeführt wurde, wurden nach sieben Tagen in vivo mikroskopiert

Die Ergebnisse bezüglich der Sinusoidaldurchmesser zeigten keine signifikanten Unterschiede bei einem Vergleich innerhalb der Kontrollgruppen und innerhalb der Versuchsgruppen. Ein Vergleich der Sinusoidaldurchmesser zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen wies eine Verminderung von ca. 50% des Durchmessers in den Versuchsgruppen auf.

Bezüglich der Anzahl der temporär- und permanent adhären Leukozyten konnten in den Kontrollgruppen keine signifikanten Unterschiede gefunden werden.

In den Versuchsgruppen hingegen wurde bei gleicher Zeitdauer der Ligatur des Ductus pancreatico-choledochus in den mit UDCA behandelten Gruppen eine signifikant niedrigere Anzahl an temporär- und permanent adhären Leukozyten als in den unbehandelten Gruppen nachgewiesen.

Aus diesen Ergebnissen wird ersichtlich, dass Ursodeoxycholsäure im Rattenmodell geeignet ist, den hepatischen Sinusendothelschaden nach bilio-pankreatischer Obstruktion zu verringern und somit einen protektiven Einfluss auf die Leber auszuüben. Inwieweit dies zur therapeutischen Beeinflussung des hepatischen RES und somit zur Verbesserung der Prognose einer biliären Pankreatitis beiträgt, muss in weiteren Studien gezeigt werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Acosta JL, Ledesma CL (1974): Gallstone migration as a cause of acute pancreatitis. *New Engl. J. Med.* 290: 484-487
2. Adams DH, Shaw S (1994): Leucocyte-endothelial interactions and regulation of leucocyte migration. *Lancet* 343:831
3. Anderson MC, Needleman SB, Gramatica L, Toronto IR, Briggs DR (1969): Further inquiries into the role of pancreatic enzymes in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Arch. Surg.* 99: 185
4. Anthuber M, Rihl M, Farkas S, Schildberg FW, Messmer K:
Intravitalmikroskopische Untersuchungen zum Einfluß von Epoprostenol auf den Ischämie/Reperfusionsschaden nach orthotoper Lebertransplantation im Rattenmodell. *Acta Chir. Austriaca Suppl* 111, 21-22 (1994)
5. Argenbright, L.W., Letts, L.G., Rothlein, R. (199): Monoclonal antibodies to the leukocyte membrane. CD18 glycoprotein complex and to intercellular adhesion molecule-1 inhibit leukocyte- endothelial adhesion in rabbits. *J. Leukoc. Biol.* 49, 253-257.
6. Armstrong MJ, Carey MC.: The hydrophobic-hydrophilic balance of bile salts. Inverse correlation between reverse-phase high performance liquid chromatographic mobilities and micellar cholesterol-solubilizing capacities. *J. Lipid Res.* 1982; 23:70 – 80.
7. Arndt, H., Kubes, P., Grisham, M.B., Gonzalez, E., Granger, D.N. (1992:) Granulocyte turnover in the feline intestine. *Gastroenterology* 16, 549-559.
8. Asako, H., Kubes, P., Wallace, J.L., Gaginella, T., Wolf, R.E., Granger, D.N. (1992): Indomethacin-induced leukocyte adhesion in mesenteric venules: role of lipoxygenase products. *Am. J. Physiol.* 262, G903-G908.

9. Asako, H., Kubes, P., Wallace, J.L., Wolf, R.E., Granger, D.N. (1992): Modulation of leukocyte adhesion in rat mesenteric venules by aspirin and salicylate. *Gastroenterology* 103, 146-152.
10. Asako, H., Kurose, I., Wolf, R., DeFrees, S., Zheng, Z., Phillips, L., Paulson, J.C., Granger, D.N. (1994): Role of H1-receptors and P-selectin in histamine-induced leukocyte rolling and adhesion in postcapillary venules. *J. Clin. Invest.*, in press.
11. Asako, H., Kurose, I., Wolf, R.E., Granger, D.N. (1994): Mechanisms of lactoferrin induced leukocyte-endothelial adhesion in postcapillary venules. *Microcirculation*, 1, 1-8.
12. Attili AF, Angelico M, Cantafora A, et al.: Bile acid-induced liver toxicity: Relation to the hydrophobic-hydrophilic balance of bile acids. *Med. Hypotheses* 1986; 19:57 – 69.
13. Baas J, Schleicher C, Elser H, Herfarth Ch, Senninger N (1995): Der Einfluß artifizierter Blockade des retikuloendothelialen Systems (RES) auf die Entwicklung der biliären Pankreatitis im Opossummodell. *Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum*: 368-371
14. Baatz H, Pleyer U, Thiel HJ, Hammer C: In vivo study of leukocyte-endothelium interaction in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36, 1960-1967 (1995)
15. Balisteri W. F., Kader H. H., Ryckman F. C. et al.: Ursodeoxycholic acid therapy in pediatric patients with chronic cholestasis. In: *Pediatric Cholestasis*, Lentze M. J., Reichen J. (eds.). Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, 333 – 343, 1992.
16. Battezzatti P.M., Podda M., Bianchi F.B. et al.: Ursodeoxycholic acid for symptomatic treatment of primary biliary cirrhosis. Preliminary analysis of a double-blind multicenter trial. *J. Hepatol.* 17, 332-338, 1993.
17. Bauer M, Marzi I, Ziegenfuß T, Seeck G, Bühren V, Larsen R:
Comperative effect of crystalloid and small volume hypertonic hyperoncotic fluid resuscitation on hepatic microcirculation after hemorrhagic shock.
Circ. Shock 40, 187-193 (1993)

18. Bauer M, Paquette NC, Zhang JX, Bauer I, Pannen BHJ, Kleeberger SR, Clemens MG: Chronic ethanol consumption increases hepatic sinusoidal contractile response to endothelin-1 in the rat *Hepatology* 22, 1565-1576 (1995)
19. Beck IT, Kahn DS, Solyniar J et al (1964): The role of proteolytic enzymes in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gastroenterology* 46: 531-542
20. Beuers U., Spengler U., Kruis W. et al.: Ursodeoxycholic acid for treatment of primary sclerosing cholangitis. A placebo-controlled trial. *Hepatology* 16, 707 – 714, 1992.
21. Bevilacqua MP (1993): Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annu. Rev. Immunol.* 11:767
22. Bevilacqua MP, Nelson RM (1993): Selectins. *J. Clin. Invest.* 91:379
23. Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS, Gimbrone MJ.: Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 84:9238-9242.
24. Carlos TM, Harlan JM (1994): Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 84:2068
25. Cavuoti OP, Moody FG, Martinez G (1988): Role of pancreatic duct occlusion with prolamine (Ethibloc) in necrotizing pancreatitis. *Surgery* 103(3): 361
26. Chazouilleres O, Poupon R, Capron JP, et al. : Ursodeoxycholic acid for primary sclerosing cholangitis. *J. Hepatol.* 1990; 11:120 – 3.
27. Cirillo NW, Zwas FR Ursodeoxycholic acid in the treatment of chronic liver disease. *Am J. Gastroenterol* 89(9): 1447-52; 1994
28. Colombo C, Crosignani A, Assaisso M, et al.: Ursodeoxycholic acid therapy in cystic fibrosis-associated liver disease: A dose-response study. *Hepatology* 1992; 16:924 – 30.

-
29. Combes B., Carithers R. L., McDonald M.F., et al.: Ursodeoxycholic acid therapy in patients with primary biliary cirrhosis. Abstract. *Hepatology*. 14, 91A, 1991.
30. Condon RE, Woods JH, Poulin TL, Wagner WG, Pissiotis CA (1974): Pancreatitis treated with glucagon or lactated Ringers solution *Arch. Surg.* 109: 154-158
31. Cotting J, Lentze MJ, Reichen J.: Effects of ursodeoxycholic acid treatment on nutrition and liver function in patients with cystic fibrosis and longstanding cholestasis. *Gut* 1990; 31:918-21.
32. Dahlen, S.E., Bjork, J., Hedqvist, P., Arfors, K.E. Hammarstrom, S., Lindgren, J.A., Samuelsson, B. (1981): Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules: in vivo effect with relevance to the acute inflammatory response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 3887-3891.
33. de Fougerolles AR, Stacker SA, Schwarting R, Springer TA.: Characterization of ICAM-2 and evidence for a third counterreceptor for LFA-1. *J. Exp. Med.* 1991; 174:253-267.
- 34 de Fougerolles AR, Qin X, Springer TA.: Characterization of the function of intercellular adhesion molecule ICAM-3 and comparison with ICAM-1 and ICAM-2 in immune responses. *J. Exp. Med.* 1994; 179:619-629.
- 35 Del. Maestro, R.F., Planker, M., Arfors, K.E. (1982): Evidence for the participation of superoxide anion radical in altering the adhesive interaction between granulocytes and endothelium in vivo. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 1, 105-120.
- 36 Diamond MS, Garcia A-J, Bickford JK, Corbi AL, Springer TA.: The I domain is a major recognition site on the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18) for four distinct adhesion ligands. *J. Cell Biol* 1993; 120:1031-1043.
- 37 Dillon, P.K., Fitzpatrick, M.F., Ritter, A.B., Duran, W.N. (1988): Effect of platelet-activating factor on leukocyte adhesion to microvascular endothelium. Time course and dose-response relationships. *Inflammation* 12, 563-573.

-
- 38 Donaldson LA, Williams RW, Schenk WG (1978): Experimental pancreatitis: effect of plasma and dextran on pancreatic blood flow. *Surgery* 89: 313-321
- 39 Dore, M., Korthuis, R.J., Granger, D.N., Entman, M.L., Smith, C.W. (1993): P-selectin mediates spontaneous leukocyte rolling in vivo. *Blood* 82, 1308-1316
- 40 Dressel TD, Goodale RL, Arneson MA, Borner JW (1978): Pancreatitis as a complication of anticholinesterase insecticide intoxication. *Ann. Surg.* 189: 199-204
- 41 Dumont RE, Martelli AB (1968): Pathogenesis of pancreatic oedema following exocrine duct obstruction. *Ann. Surg.* 168: 302-309
- 42 Elliot DW, Williams Rd, Zollinger RM (1957): Alterations in the pancreatic resistance to bile in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann. Surg.* 146: 669-682
- 43 Erlinger S.: Hypercholeretic bile acids: A clue to the mechanism. *Hepatology* 1990; 11:888 – 90.
44. Eusufzai S, Ericsson S, Cederlund T, et al.: Effect of ursodeoxycholic acid treatment on ileal absorption of bile acids in man as determined by the SeHCAT test. *Gut* 1991; 32:1044 – 8.
45. Evander A, Ihse I, Lundquist I (1981): Influence of hormonal stimulation by caerulein on acute experimental pancreatitis in the rat. *Europ. J. Surg. Res.* 13: 257
46. Farmer RC, Maslin SC, Reber HA (1983): Acute pancreatitis - role of duct permeability *Surg. Forum* 34: 224-227
47. Figarella C, Miszczuk-Jamska B, Barret A (1988): Possible lysosomal activation of pancreatic zymogens: activation of both human trypsinogens by cathepsin B and spontaneous acid activation of human trypsinogen. *Biol. Chem. Hoppe Seyler* 369:293-298

-
48. Fries JW, Williams AJ, Atkins RC, Newman W, Lipscomb MF, Collins T.: Expression of VCAM-1 and E-selectin in an in vivo model of endothelial activation. *Am. J. Pathol.* 1993; 143:725-737.
49. Gaboury, J., Anderson, D.C., Kubes, P. (1994): Molecular mechanisms involved in superoxide-induced leukocyte-endothelial cell interactions in vivo. *Am. J. Physiol.*, 266, H 637-H642.
50. Gaboury, J., Arfors, K.E., Kubes, P. (1994): Selectin-dependent leukocyte rolling is influenced by shear forces in inflammation. *FASEB J.*, in press.
51. Gaboury, J., Woodman, R.C., Granger, D.N., Reinhardt, P., Kubes, P. (1993): Nitric oxide prevents leukocyte adherence: role of superoxide. *Am. J. Physiol.* 265, H862-H867.
52. Gadskin JK, Waters DLM; Howmann-Giles R, et al.: Liver disease and common bile duct stenosis in cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318:340 – 6.
53. Galle P, Theilmann L, Raedsch R, et al.: Ursodeoxycholate reduces hepatotoxicity of bile salts in primary human hepatocytes. *Hepatology* 1990; 12:486 – 91.
54. Geokas MC, Rinderknecht H, Swanson V, Haverback BJ (1969): Role of elastase in acute hemorrhagic pancreatitis. *Lab. Invest.* 19: 235
55. Gorelick FS, Otani T (1998): Mechanisms of intracellular zymogen activation In: Neoptolemos JP (ed), *Ballière's Clinical Gastroenterology*. London, Baillière Tindall, p 45
56. Grady T, Liang P, Ernst SA, et al (1997): Chemokine gene expression in rat pancreatic acinar cells in an early event associated with acute pancreatitis. *Gastroenterology* 113:1966-1975
57. Grady T, Mah´moud M, Otani T, et al (1998): Zymogen proteolysis within the pancreatic acinar cell is associated with cellular injury. *Am. J. Physiol.* 275:G1010

58. Granger, D.N., Kvietys, P.R., Perry, M.A. (1993): Leukocyte-endothelial cell adhesion induced by ischemia and reperfusion. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 71, 67-75.
59. Grant D (1986): Acute necrotising pancreatitis – a role for enterokinase
Int. J. Pancreatol 1: 167-183
60. Goldutuna S, Zimmer G, Imhof M, et al.: Molecular aspects of membrane stabilization by ursodeoxycholate. *Gastroenterology* 1993; 104:1736 – 44.
61. Gukovskaya AS, Gukovsky I, Zaninovic V, et al (1997): Pancreatic acinar cells produce, release, and respond to tumor necrosis factor- α . *J. Clin. Invest.* 100:1853-1862
62. Gukovskaya A, Pandol S (1994): Nitric oxide production regulates cGMP formation and calcium influx in pancreatic acinar cells. *Am. J. Physiol.* 266:G350-G356
63. Gukovskaya AS, Sandoval D, Zaninovic V, et al (1996): Tumor necrosis factor regulates cell death in caerulein-induced pancreatitis. *Gastroenterology* 110:a394
64. Hansson K (1967): Experimental and clinical studies in the aetiologic role of bile reflux in acute pancreatitis. *Acta Chir. Scand. (Suppl)* 375: 1-102
65. Harlan, J.M., Liu, D.Y. (1992): *Adhesion: Its Role in Inflammatory Disease*. W.H. Freeman, New York.
66. Hayashi H., Hihucchi T., Ichimiya H. et al.: Symptomatic improvement of primary sclerosing cholangitis treated with ursodeoxycholic acid. *Gastroenterol.* 99, 533 – 535, 1990.
67. Heathcote E. J. L., Cauch-Dudek K., Walker V. et al.: The Canadian multi-center double-blind randomized controlled trial of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Hepatol.* 19, 1149 – 1156, 1994.

-
68. Henninger DD, Panés J, Eppihimer M, Russel J, Gerritsen M, Anderson DC, Granger DN. Cytokine-induced VCAM-1 and ICAM-1 expression in different organs of the mouse. *J. Immunol.* 1997; 158:1825-1832.
69. Hernandez CA, Lerch MM (1993): Sphincter stenosis and gallstone migration through the biliary tract. *Lancet* 341: 1371-73
70. Heumann DM, Pandak WM, Hylemon PB, et al.: Conjugates of ursodeoxycholate protect against cytotoxicity of more hydrophobic bile salts: In vitro studies in rat hepatocytes and human erythrocytes. *Hepatology* 1991; 14:920 – 6.
71. Hirano T, Saluja A, Ramarao P, et al (1991): Apical secretion of lysosomal enzymes in rabbit pancreas occurs via a secretagogue regulated pathway, and is increased after pancreatic duct obstruction. *J. Clin. Invest.* 87:865-869
72. Hori Y, Ohyanagi H Protective effect of the intravenous administration of ursodeoxycholic acid against endotoxemia in rats with obstructive jaundice. *Surg. Today.* 27(2): 140-44; 1997
73. Hwang S.J., Chan C.-Y., Lee S.-D. et al.: Ursodeoxycholic acid in the treatment of primary biliary cirrhosis. A short-term, randomized, double-blind controlled cross-over study with long-term follow up. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 8, 213-223, 1993.
74. Johnson RM, Barone RM, Newson BL, Das Gupta TK, Nyhus LM (1973): Treatment of experimental acute pancreatitis with 5-flourouracil (5-FU). *Am. J. Surg.* 125: 211
75. Kawano K, Bowers JL, Kruskal JB, Clouse ME: In vivo microscopic assessment of hepatic microcirculation during liver allograft rejection in the rat *Transplantation.* 59, 1241-1248 (1995)
76. Kimura W, Meyer F, Hess D, Kirchner T, Fischbach W, Mössner J (1992): Comparison of different treatment modalities in experimental pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 103: 1916-1924

-
77. Kishimoto, T.K., Anderson, D.C. (1992): The role of integrins in inflammation. In *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*, 2nd ed. (J.I. Gallin, I.M. Goldstein, and R. Snyderman, eds) Raven, New York, 353-406.
78. Klöppel G, von Gerkan R, Dreyer T (1984): Pathomorphology of acute pancreatitis. Analysis of 367 autopsy cases and 3 surgical specimens In: Gyr KE, Singer MV, Sarles H (Hrsg) *Pancreatitis. Concepts and classification*. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, New York, Oxford; 29-35
79. Koczar L, Bertok L, Verteresz V (1969): Effect of bile acids on the intestinal absorption of endotoxin in rats. *J. Bacteriol.* 100: 220
80. Koepfel TA, Trauner M, Baas JC, Thies JC, Schlosser SF, Post S, Gebhard MM, Herfarth C, Boyer JL, Otto G (1997): Extrahepatic biliary obstruction impairs microvascular perfusion and increases leukocyte adhesion in rat liver. *Hepatology* 26: 1085-91
81. Komatsu H, Koo A, Guth PH: Leukocyte flow dynamics in the rat liver microcirculation *Microvasc. Res.* 40, 1-13 (1990)
82. Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ.: Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. *Br. J. Exp. Pathol.* 1984; 65:305-311.
83. Krol T, Kitamura T, Miyai K, Hardison W.: Tauroursodeoxycholate (TUDC) reduces ductular proliferation and portal inflammation in bile-duct ligated hamsters (abstr). *Hepatology* 1983; 3:335.
84. Kubes, P., Grisham, M.B. Barrowman, J.A., Gaginella, T., Granger, D.N. (1991): Leukocyte-induced vascular protein leakage in cat mesentery. *Am. J. Physiol.* 261, H1872-H1879.
85. Kubes, P., Hunter, J., Granger, D.N. (1992): Ischemia/reperfusion induced feline intestinal dysfunction: importance of granulocyte recruitment. *Gastroenterology* 103, 807-812.

-
86. Kubes, P., Kanwar, S. (1994): A new model to visualize leukocyte roll in vivo. *J. Immunol.*, in press.
87. Kubes, P., Suzuki, M., Granger, D.N. (1990): Modulation of PAF-induced leukocyte adherence and increased microvascular permeability. *Am. J. Physiol.* 259, G859-G864.
88. Kurose, I., Anderson, D.C., Miyasaka, M., Tamatani, T., Paulson, J.C., Todd, R.F., Rusche, J.R., Granger, D.N. (1994): Molecular determinants of reperfusion-induced leukocyte adhesion and vascular protein leakage. *Circ. Res.*, 74, 336-343.
89. Lampel M, Kern HF (1977): Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of pancreatic secretagogue. *Virchow's Arch. A.* 373: 97
90. Lankisch PG, Pohl U, Göke B, Otto J, Wereszczynska-Siemiakowska U, Gröne HJ, Rahlf G (1989): Effect of Foy-305 (camostat) on severe acute pancreatitis in two experimental animal models. *Gastroenterology* 96: 193-199
91. Lasky LA (1995): Selectin-carbohydrate interactions and the initiation of the inflammatory response. *Annu. Rev. Biochem.* 64:113
92. Lasky LA.: Selectins: interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation. *Science* 1992; 258; 964-969
93. Lasson A, Ohlsson K (1984): Protease inhibitors in acute pancreatitis: correlation between biochemical changes and clinical course. *Scand. J. Gastroenterol.* 19:779-786
94. Lee SP, Nicholls JF, Park HZ (1992): Biliary sludge as a cause of acute pancreatitis *N. Engl. J. Med.* 326: 589-593
95. Lehr, H.A., Hubner, C., Nolte, D., Kohlscutter, A., Messmer, K. (1991): Dietary fish oil blocks the microcirculatory manifestations of ischemia-reperfusion injury in striated muscle in hamsters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 6726-6730

-
96. Lehr, H.A.-A., Kress, E., Menger, M.D. (1993): Involvement of 5 lipoxygenase products in cigarette smoke-induced leukocyte/endothelium interactions in hamsters. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 12, 61-73.
97. Lerch MM, Hernandez CA, Adler G (1994): Acute pancreatitis
New Engl. J. Med. 331: 948-949
98. Lerch MM, Saluja AK, Dawra R, Ramarao P, Saluja M, Steer ML (1992): Acute necrotizing pancreatitis in the opossum: earliest morphological changes involve acinar cells. *Gastroenterology* 103: 205
99. Lerch MM, Saluja AK, Rünzi M, Dawra R, Saluja M, Steer ML (1993): Pancreatic duct obstruction triggers acute necrotizing pancreatitis in the opossum. *Gastroenterology* 104: 853-861
100. Lerch MM, Weidenbach H, Hernandez CA, Prelik G, Adler G (1994): Pancreatic outflow obstruction as the critical event for human gallstone-induced pancreatitis. *Gut* 35: 1501-1503
101. Leser HG, Gross V, Scheibenbogen C, et al (1991): Evaluation of serum interleukin-6 concentration precedes acute phase response, and reflects severity in acute pancreatitis. *Gastroenterology* 101:782-785
102. Leuschner U., Fischer H., Kurtz W. et al.: Ursodeoxycholic acid in primary biliary chirrhosis: results of a controlled double-blind trial. *Gastroenterol.* 97, 1268-1274, 1989.
103. Leuschner U., Kurtz W.: Pharmacological aspects and therapeutic effects of ursodeoxycholic acid. *Dig.* 1990; 8:12 – 22.
104. Ley, K., Gaehtgens, P. (1991): Endothelial, not haemodynamic, differences are responsible for preferential leukocyte rolling in rat mesenteric venules. *Circ. Res.* 69, 1034-1041.

-
- 105.Ley, K., Gaethgens, P., Fennie, C., Singer, M.S., Lasky, L.A., Rosen, S.D. (1991): Lectin-like cell adhesion molecule 1 mediates leukocyte rolling in mesenteric venules in vivo. *Blood* 77, 2553-2555.
- 106.Lindbom, L., Xie, X., Raud, J., Hedqvist, P. (1992): Chemoattractant-induced leukocyte adhesion to vascular endothelium in vivo is critically dependent on initial leukocyte rolling. *Acta Physiol. Scand.* 146, 415-421.
- 107.Lindor K.D., Dickson E.R., Baldus W.P. et al.: Ursodeoxycholic acid in the treatment of primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 106, 1284-1290, 1994.
- 108.Lombardi B (1976): Influence of dietary factors on the pancreatotoxicity of ethionine. *Am. J. Pathol.* 84: 633-648
- 109.Lombardi B, Estes LW, Longnecker DS (1975): Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline deficient diet. *Am. J. Pathol.* 79: 465
- 110.Lotterer E., Stiehl A., Raedsch R. et al.: Ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. No evidence of toxicity in the stages I to III. *J. Hepatology*. 10, 284 – 290, 1990.
- 111.Luzuki, M., Asako, H., Kubes, P., Jennings, S., Grisham, M.B., Granger, D.N. (1991): Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules. *Microvasc. Res.* 42, 125-138.
- 112.Ma. X.-L., Weyrich, A.S., Lefer, D.J., Buerke, M., Albertine, K.H. Kishimoto, T.K., Lefer, A.M. (1993): Monoclonal antibody to L-selectin attenuates neutrophil accumulation and protects ischemic reperfused cat myocardium. *Circulation* 88, 649-658.
- 113.Marlin SD, Springer TA,: Purified intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function-associated antigen (LFA-1). *Cell*. 1987; 51:813-819.
- 114.Marzi I, Bauer C: Mikrozirkulationsstörungen der Leber nach hämorrhagischem Schock. *Acta Chir. Austriaca Suppl* 111, 18-20 (1994)

115. Marzi I, Knee J, Bühren V, Menger M, Trenz O:
Reduction by superoxide dismutase of leukocyte-endothelial adherence after liver
Transplantation. *Surgery* 111, 90-97 (1992)
116. Marzi I, Walcher F, Bühren V: Macrophage activation and leukocyte adhesion after liver
transplantation. *Am. J. Physiol.* 265, G172-G177 (1993)
117. Matsuzaki Y, Tanaka N, Osuga T, et al.: Improvement of biliary enzyme levels and
itching as a result of long term administration of ursodeoxycholic acid in primary biliary
cirrhosis. *Am. J. Gastroenterol* 1990; 85:15 – 23.
118. Mayadas, T.N., Johnson, R.C., Rayburn, H., Hynes, R.O., Wagner, D.D. (1993):
Leukocyte rolling and extravasation are severely compromised in P-selectin-deficient
mice. *Cell* 74, 541-554.
119. McEver R.P.: GMP-140: a receptor for neutrophils and monocytes on activated platelets
and endothelium. *J. Cell Biochem.* 1991; 45:156-161
120. McEver, R.P. (1991): Selectins; novel receptors that mediate leukocyte adhesion during
inflammation. *Thromb. Haemost.* 65, 223-228.
121. Meeberg PC, Wolfhagen FH, Henegouwen GP, Salemans JM, Tangerman A: Single or
multiple dose ursodeoxycholic acid for cholestatic liver disease: biliary enrichment and
biochemical response UDCA und PBC/PSC. *J. Hepatol.* 25(6): 887-94; 1996
122. Mian, R., Marshall, J.M. (1993): Effect of acute systemic hypoxia on vascular
permeability and leukocyte adherence in the anaesthetised rat.
Cardiovasc.-. Res. 27, 1531-1537.
123. Miura, S., Imaeda, H., Shiozaki, H., Kurose, I., Fukumura, D., Tashiro, H., Serizawa, H.,
Suematsu, M., Sekituka, E., Tsuchiya, M. (1993): Attenuation of endotoxin-induced
intestinal microcirculatory damage by eicosapentanoic acid.
Am. J. Physiol. 264, G828-G834.

-
- 124.Miyazaki K, Nakayama F, Koga A.: Effect of chenodeoxycholic and ursodeoxycholic acids on isolated human hepatocytes. *Dig. Dis. Sci.* 1984; 19:1123-1130.
- 125.Mora A, Perez-Mateo M, Viedma JA, et al (1997): Activation of cellular immune response in acute pancreatitis. *Gut* 40:794-797
- 126.Mössner J (1989): Ätiologie, Pathogenese und Pathophysiologie der akuten Pankreatitis *Internist* 30: 705-717
- 127.Mulligan, M.S., Varani, J., Dame, M.K., Lane, C.L., Smith, C.W., Anderson, D.C., Ward, P.A. (1991): Role of ELAM-1 in neutrophil-mediated lung injury in rats. *J. Clin. Invest.* 88, 1396-1406.
- 128.Murayama KM, Drew JB, Nahrwold DL, Joehl RJ (1990): Cholecystokinin antagonist prevents hyperamylasemia and improves pancreatic exocrine function in cerulein-induced acute pancreatitis. *Pancreas* 5: 439
- 129.Nagai H, Heinrich H, Wunsch PH, Fischbach W, Mössner J (1989): Role of pancreatic enzymes and their substrates in autodigestion of the pancreas. *Gastroenterology* 96: 838-847
- 130.Nevalainen T, (1978): Pancreatic injury caused by intraductal injection of foreign serum in rat. *Virchows' Arch. B* 27: 89
- 131.Nittono H., Tokita A., Hayashi M. et al.: Ursodeoxycholic acid therapy in the treatment of biliary atresia. *Biomed. Pharmacother.* 43, 37 – 41,
- 132.Norman J (1998): The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis *Am. J. Surg.* 175:76-83
- 133.Norman JG,Fink GW,Franz MG (1995): Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression. *Arch. Surg.* 130:966-970

134. Norman J, Franz M, Messina J, et al (1995): Interleukin-1 receptor antagonist decreases severity of experimental acute pancreatitis. *Surgery* 117:648-655
135. O'Brien CB, Senior JR, Arona-Mirchandani R, et al.: Ursodeoxycholic acid for the treatment of primary sclerosing cholangitis: A 30-month pilot study. *Hepatology* 1991; 14:838 – 47.
136. Oka H., Toda Y., Ikeda Y. et al.: A multi-center double-blind controlled trial of ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis. *Gastroenterol. Jpn.* 25, 774-780, 1990.
137. O'Konski MS, Pandol SJ (1990): Effects of caerulein on the apical cytoskeleton of the pancreatic acinar cell. *J. Clin. Invest.* 86:1649-1657
138. O'Konski MS, Pandol SJ (1993): Cholecystokinin JMV-180 and caerulein effects on the pancreatic acinar cell cytoskeleton. *Pancreas* 8:638-646
139. Oliver, M.G., Specian, R.D., Perry, M.A., Granger, D.N.(1991): Morphologic assessment of leukocyte-endothelial cell interactions in mesenteric venules subjected to ischemia and reperfusion. *Inflammation* 15, 331-346.
140. Olofsson, A.M., Von Andrian, U.H., Ranezani, L., Wolitzny, B., Arfors, K.E. (1993): E-selectin mediates leukocyte rolling in interleukin-1 treated rabbit mesentery venules. *FASEB J.* 7, A342. Abstract.
141. Opie EL (1901): The etiology of acute hemorrhagic pancreatitis. *Johns Hopkins Hosp Bull* 12: 182-188
142. Opie EL (1901): The relation of cholelithiasis to disease of the pancreas and to fat-necrosis *Johns Hopkins Hosp Bull* 12: 19-21
143. Oppenheimer EH, Esterly JR,: Hepatic changes in young infants with cystic fibrosis: Possible relation to focal biliary cirrhosis. *J. Pediatr.* 1975; 86:683 – 9.

-
- 144.Otani T, Lerch MM, Gorelick FS (1998): Acinar cell cytoplasmic vacuole generation in vivo and in vitro under secretagogue hyperstimulation. *Gastroenterology* 114:A489
- 145.Pain JA, Bailey ME: Measurement of operative endotoxine levels in jaundiced and non-jaundiced patients. *Eur. Surg. Res.* 19: 207-16; 1987
- 146.Pain JA, Bailey ME (1986): Experimental and clinical study of lactulose in obstructive jaundice. *Br. J. Surg.* 73: 775
- 147.Pain JA, Bailey ME (1988): Prevention of endotoxaemia in obstructive jaundice - a comparative study of bile salts. *HPB Surg.* 1: 21
- 148.Palma J., Reyes H., Ribalta J. et al.: Effects of ursodeoxycholic acid in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Hepatology*. 15, 1043 – 1047, 1992.
- 149.Panés J, Perry MA, Anderson DC, Manning A, Leone B, Cepinskas G, Rosenbloom CL, Miyasaka M, Kvietys PR, Granger DN.: Regional differences in constitutive and induced ICAM-1 expression in vivo. *Am. J. Physiol.* 1995: 269:H1955-H1964.
- 150.Papp M (1976): Pathogenesis of acute pancreatitis: pancreatic ductal-interstitial-vascular and lymphatic pathways. *Acta Med. Acad. Sci. Hung.* 33: 191-206
- 151.Patel KD, Moore KL, Nollert MU, Mc Ever RP, Neutrophils use both shared and distinct mechanisms to adhere to selectins under static and flow conditions. *J. Clin Invest.* 1995; 96: 1887-1896.
- 152.Pfeffer RB, Stasio O, Hinton JW (1957): The clinical picture of the sequential development of acute haemorrhagic pancreatitis in the dog. *Surg. Forum* 8: 248-251
- 153.Picker LJ, Warnock RA, Burns AR, Doerschuk CM, Berg EL, Butcher EC.: The neutrophil selectin LECAM-1 presents carbohydrate ligands to the vascular selectins ELAM-1 and GMP-140. *Cell* 1991; 66:921-933.

154. Poo J, Feldmann G, Erlinger S, Braillon A, Gaudin C, Dumont M, Lebrech D: Ursodeoxycholic acid limits liver histologic alterations and portal hypertension induced by bile duct ligation in the rat. *Gastroenterology* 1992; 102:1752-1759
155. Popper HL, Necheles H (1942): Oedema of the pancreas. *Surg. Gynecol. Obstet.* 74: 123
156. Post S, Gonzalez AP, Palma P, Rentsch M, Stiehl A, Menger MD: Assessment of hepatic phagocytic activity by in vivo microscopy after liver transplantation in the rat
Hepatology 16, 803-809 (1992)
157. Post S, Menger MD, Rentsch M, Gonzalez AP, Palma P, Messmer K: New potentials of intravital fluorescence microscopy of the liver. *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* 11, 216 (1992)
158. Post S, Palma P, Rentsch M, Gonzalez AP, Menger MD: Hepatic reperfusion injury following cold ischemia in the rat: potentials of quantitative analysis by in vivo fluorescence microscopy. *Prog. Appl. Microcirc.* 19, 152-166 (1993)
159. Post S, Rentsch M, Palma P, Gonzalez AP, Otto G, Menger MD: Effect of Carolina Rinse Solution on Kupffer cell activation after reperfusion in rat liver transplantation. *Transplant Proc.* 24, 2703 (1992)
160. Poupon R. E., Balkau B., Eschwege E., Poupon R.: A multicenter controlled trial of ursodiol for the treatment of primary biliary cirrhosis. *New Engl. J. Med.* 324, 1548-1554, 1991.
161. Poupon RE, Beverley B, Eschwège E, Poupon R, and The UDCA-PBC Study Group. A multicenter, controlled trial of ursodiol for the treatment of primary biliary cirrhosis. *N Engl. J. Med.* 1991; 324:1548-1554.
162. Poupon R, Chrétien Y, Poupon RE, Ballet F, Calmus Y, Darnis F: Is ursodeoxycholic acid an effective treatment for primary biliary cirrhosis? *Lancet* 1987; 1:834-836.
163. Psacharopoulos HT, Mowat AP: The liver and biliary system. In: Hodson ME, Normann AP, Batten JC, eds. *Cystic fibrosis*. London: Bailliere and Tindall, 1983:164.

164. Ramirez R, Brems J, Lee T, Kaminski DL (1984): The effect of 16,16-dimethyl protaglandin E2 on experimental bile reflux pancreatitis in the opossum. *Surg. Gastroenterol* 3: 60-68
165. Reber HA, Robert C, Way LW (1979): The pancreatic duct mucosal barrier. *Am. J. Surg.* 137: 128-134
166. Ros E, Navarro S, Bru C, Garcia-Puges A, Valderrama R (1991): Occult microlithiasis in „idiopathic“ acute pancreatitis: prevention of relapses by cholecystectomy or ursodeoxycholic acid therapy. *Gastroenterology* 101: 1701-1709
167. Saluja AK, Donovan EA, Yamanaka K, et al (1997): Cerulein-induced in vivo activation of trypsinogen in rat pancreatic acini is mediated by cathepsin B. *Gastroenterology* 113:304-311
168. Saluja A, Sadamitsu H, Saluja M, et al (1987): Subcellular redistribution of lysosomal enzymes during caerulein-induced pancreatitis. *Am. J. Physiol.* 253:G508-G516
169. Saluja M, Saluja A, Lerch MM, Steer ML (1991): A plasma protease which is expressed during supramaximal stimulation causes in vitro subcellular redistribution of lysosomal enzymes in rat exocrine pancreas. *J. Clin. Invest.* 87: 1280-1285
170. Sanders WE, Wilson RW, Ballantyne CM, Beudet AL. Molecular cloning and analysis of in vivo expression of murine P-selectin. *Blood* 1992; 80:795-800.
171. Schaffner F, Bacchin PG, Hutterer F, Scharnbeck HH, Sarkozi LL, Denk H, Popper H. Mechanism of cholestasis. 4. Structural and biochemical changes in the liver and serum in rats after bile duct ligation. *Gastroenterology* 1971; 60:888-891.
172. Schmidt H, Creutzfeld W (1969): The possible role of phospholipase-A in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Scand. J. Gastroenterol* 4: 39

- 173.Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT, Warshaw AL (1992): A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann. Surg.* 215: 44-56
- 174.Scholmerich J, Becher MS, Schmidt K, Schubert R, Kremer B, Feldhaus S, Gerok W.: Influence of hydroxylation and conjugation of bile salts on their membrane-damaging properties-studies on isolated hepatocytes and lipid membrane vesicles. *Hepatology* 1984; 4:661-666.
- 175.Schürmann G, Bishop AE, Facer P, Lee JCW, et al (1993): Altered expression of cell adhesion molecules in uninvolved areas of gut in inflammatory bowel disease. *Clin. Exp. Immunol* 94:341
- 176.Seidel H (1910): Bemerkungen zu meiner Methode der experimentellen Erzeugung der akuten haemorrhagischen Pankreatitis. *Zentralbl. Chir.* 37: 1601-1604
- 177.Senninger N, Moody FG, Coelho JCU, Van Buren DH (1986): The role of biliary obstruction in the pathogenesis of acute pancreatitis in the opossum. *Surgery* 99: 688
- 178.Spiegel HU, Scommotau S, Uhlmann D, Giersch B: Effect of endothelin receptor antagonist bosentan on postischemic liver microcirculation. *Zentralbl. Chir.* 121, 788-793 (1996)
- 179.Springer, T.A., Lasky, L.A. (1991): Sticky sugars for selectins. *Nature* 349, 196 -197.
- 180.Staunton DE, Dustin ML, Springer TA: Functional cloning of ICAM-2, a cell adhesion ligand for LFA-1 homologous to ICAM-1. *Nature* 1989;339:61-64.
- 181.Steer ML (1986): Etiology and pathophysiology of acute pancreatitis In: Go VLW, Gardner JD, Brooks FP, Lebenthal E, DiMagno EP, Scheele GA (Hrsg), *The exocrine pancreas*, Raven Press, New York; 465-474
- 182.Stiehl A.: Ursodeoxycholic acid therapy in treatment of primary sclerosing cholangitis. *Scand. J. Gastroenterol.* 29 (Suppl. 204), 59 – 61, 1994.

183. Stiehl A., Raedsch R., Kommerell B.: The effect of ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis. A comparison to primary biliary cirrhosis. *Gastroenterol.* 94, Abstract, A595, 1988.
184. Stiehl A., Raedsch R., Rudolph G.: Acute effects of ursodeoxycholic and chenodeoxycholic acid on the small intestinal absorption of bile acids. *Gastroenterology* 1990; 98:424 – 8.
185. Stiehl A., Rudolph G., Raedsch R. et al.: Ursodeoxycholic acid – induced changes of plasma and urinary bile acids in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 12, 492 – 497, 1990.
186. Stiehl A., Walker S., Stiehl L. et al.: Effects of ursodeoxycholic acid on liver and bile duct disease in primary sclerosing cholangitis. A 3 year pilot study with a placebo-controlled study period. *J. Hepatology* 20, 75 – 64, 1994.
187. Strazzabosco M., Sakisaka S., Hayakawa T., Boyer JL: Effect of UDCA on intracellular and biliary pH in isolated rat hepatocyte couplets and perfused livers. *Am. J. Physiol.* 160: 373 - 5; 1991
188. Suzuki, M., Inauen, W., Kvietys, P.R., Grisham, M.B., Meining, C.J., Schelling, M.E., Granger, H.J., Granger, D.N. (1989): Superoxide mediates reperfusion-induced leukocyte-endothelial cell interactions. *Am. J. Physiol.* 257, H1740-H1745.
189. Takei Y, Marzi I, Gao W, Gores GJ, Lemasters JJ, Thurman RG: Leukocyte adhesion and cell death following orthotopic liver transplantation in the rat. *Transplantation* 51, 959-965 (1991)
190. Taub DD, Oppenheim JJ (1994): Chemokines, inflammation and the immune system. *Ther. Immunol.* 1:229
191. Turner I. B., Myszor M., Mitchison H. C. et al.: A two year controlled trial examining the effectiveness of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *J. Gastroenterol. Hepatology* 0. 162 --168, 1994.

192. Ulrich D., Rating D., Schroeter W. et al.: Treatment with ursodeoxycholic acid renders children with biliary atresia suitable for liver transplantation. *Lancet* II, 1324, 1987.
193. van de Stolpe A, van der Saag PT: Intercellular adhesion molecule 1. *J. Mol. Med.* 1996;74:13-33.
194. Vollmar B, Glasz J, Post S, Menger MD (1996): Role of microcirculatory derangements in manifestation of portal triad cross-clamping-induced hepatic reperfusion injury. *J. Surg. Res.* 60, 49-54
195. Vollmar B, Menger MD, Glasz J, Leiderer R, Messmer K: Impact of leukocyte-endothelial cell interaction in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am. J. Physiol.* 267, G786-G793 (1994)
196. von Andrian, U.H., Chambers, J.D., Berg, E.L., Michie, S.A., Brown, D.A., Karolak, D., Ramezani, L., Berger, E.M., Arfors, K.E., Butcher, E.C. (1993): L-selectin mediates neutrophil rolling in inflamed venules through sialyl Lewis^x-dependent and -independent recognition pathways. *Blood* 82, 182-191.
197. von Adrian, U.H., Chambers, J.D., McEvoy, L.M., Bargatze, R.F., Arfors, K.E., Butcher, E.C. (1991): Two step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and the leukocyte beta 2 integrins in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 7538-7542.
198. Wallace, J.L., McKnight, W., Miyasaka, M., Tamatani, T., Paulson, J., Anderson, D.C., Granger, D.N. Kubes, P. (1993): Role of endothelial adhesion molecules in NSAID-induced mucosal injury. *Am. J. Physiol* 265, G993-G998.
199. Walker NI (1987): Ultrastructure of the rat pancreas after experimental duct ligation. The role of apoptosis and intraepithelial macrophages in acinar cell deletion. *Am. J. Pathol.* 126: 439-451

-
200. Walker NI, Winterford CM, Kerr JFR (1992): Ultrastructure of the rat pancreas after experimental duct ligation. II. duct and stromal cell proliferation, differentiation, and deletion. *Pancreas* 7: 420-434
201. Wedgwood DR, Farmer RC, Reber HA (1986): A model of haemorrhagic pancreatitis in rats – the role of 16-16 dimethyl prostaglandin E₂. *Gastroenterology* 90: 32-39
202. Weller A, Isenmann S, Vestweber D. Cloning of the mouse endothelial selectins: expression of both E- and P-selectin is inducible by tumor necrosis factor alpha. *J. Biol. Chem.* 1992; 267:15176-15183.
203. Weyrich, A.S., Ma, X., Lefer, D.J., Albertine, K.H., Lefer, A.M. (1993): In vivo neutralization of P-selectin protects feline heart and endothelium in myocardial ischemia and reperfusion injury. *J. Clin. Invest.* 91, 2620-2629.
204. White TT, Magee DF (1960): Perfusion of the dog pancreas with bile without production of pancreatitis *Ann Surg* 151: 245-250
205. Whitrock RM, Hine D, Crane J, McCorkel HJ (1955) The effect of bile flow through the pancreas. *Surgery* 38: 122-133
206. Yoon YB, Hagey LR, Huffman AF, et al.: Effect of side chain shortening on the physiologic properties of bile acids: Hepatic transport and effect on biliary secretion of 23-nor-ursodeoxycholate in rodents. *Gastroenterology* 1986; 90:837 – 52.
207. Zimmerhackl B, Parekh N, Brinkhus H, Steinhausen M: The use of fluorescent labeled erythrocytes for intravital investigation of flow and local hematocrit in glomerular capillaries in the rat. *Int. J. Microcirc: Clin. Exp.* 2, 119-129 (1983)
208. Zimmermann, B.J., Holt, J.W., Paulson, J.C., Anderson, D.C., Miyasaka, M., Tamatani, T., Todd, R.F., Rusche, J.R., Granger, D.N. (1994): Molecular determinants of lipid mediator-induced leukocyte adherence and emigration in rat mesenteric venules. *Am. J. Physiol.*, in press.

7. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Kühme
 Vorname: Marc
 Geburtsdatum: 30.09.1973
 Geburtsort: Hannover
 Nationalität: Deutsch
 Konfession: evangelisch
 Familienstand: verheiratet
 Vater: Wilhelm Kühme; Beamter
 Mutter: Monika Kühme, geb. Johannpeter; Hausfrau
 Geschwister: Peter, geb. 1966

Ausbildung

Grundschule:

1980-1984 Hafenschule Minden

Gymnasium:

1984-1993 Herder-Gymnasium Minden

1993 Abitur

Fremdsprachen: Englisch, Latein

Zivildienst:

11/1993-01/1995 Rettungssanitäter bei der Berufsfeuerwehr Minden

Praktika:

04/96-05/96 Krankenpflegepraktikum am Herz- und Diabeteszentrum Bad Oeynhausen

Studium:

April 1995 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

März 1997 Ärztliche Vorprüfung

März 1998 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

September 2000 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Oktober 2000 Beginn des Praktischen Jahres am Klinikum Minden
 November 2001 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und Teilapprobation
 als Arzt im Praktikum

Famulaturen:

08/97 – 09/97 Innere Abteilung, Krankenhaus Bethel, Bückeburg
 07/98 – 08/98 Allgemein- und Unfallchirurgische Abteilung,
 Städtisches Krankenhaus Marienhospital Arnberg
 02/99 – 03/99 Ambulanz der Klinik und Poliklinik für Unfall- und
 Handchirurgie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster
 07/99 – 08/99 Klinik und Poliklinik für Allgemeine Chirurgie,
 Westfälische Wilhelms-Universität Münster
 08/99 – 09/99 Klinik für Urologie und Kinderurologie, Klinikum Minden

Praktisches Jahr:

10/00-02/01 Klinik für Urologie und Kinderurologie,
 Klinikum Minden
 02/01-06/01 Allgemeinchirurgische Klinik,
 Klinikum Minden
 06/01-09/01 Medizinische Klinik,
 Klinikum Minden

Beruflicher Werdegang**Arzt im Praktikum:**

18.12.01-17.03.03 Arzt im Praktikum, Allgemeinchirurgische Klinik,
 Klinikum Minden
 18.03.03-18.06.03 Arzt im Praktikum, Klinik für Urologie und Kinderurologie,
 Klinikum Minden
 Seit dem 19.06.03 Assistenzarzt, Klinik für Urologie und Kinderurologie,
 Klinikum Minden

Minden, 25.11.2004

8. Danksagungen

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Norbert Senninger für die freundliche Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung der Arbeit und auch für das Vertrauen und die fachliche Förderung, die er mir jederzeit entgegenbrachte.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meinem unmittelbaren Betreuer, Herrn Dr. med. Jens Baas, der in der Zwischenzeit den ärztlichen Beruf aufgegeben hat und dem ich auf diesem Wege noch einmal viel Erfolg in seiner beruflichen Karriere wünschen möchte.

Herrn Prof. Dr. med. Dipl. Ing. Hans-Ulrich Spiegel aus der Experimentellen Chirurgie der Chirurgischen Universitätsklinik Münster danke ich für die Überlassung der räumlichen Gegebenheiten, der Instrumentarien zur Durchführung des experimentellen Teils sowie der fachkundigen Unterstützung der vorliegenden Studie.

Als Mentoren meiner klinischen Tätigkeit gilt mein Dank für ihre Förderung Herrn Prof. Dr. med. K. Haubensak (Minden) und Herrn Prof. Dr. med. J. Grönniger (Minden).

Zuletzt möchte ich noch meinen ganz persönlichen Dank an meine Eltern und meine Ehefrau Janika richten, die mich während meines gesamten Studiums, stets nach allen Kräften und in jeder Hinsicht unterstützt haben.



-> 10.6.98

Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster, 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis

Herrn Dr. Jens Christian Baas
Klinik und Poliklinik für Allgemeinchirurgie
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Waldeyerstraße 1

48149 Münster

Dienstgebäude
Domplatz 1-3
Telefon: (0251) 411-0
Durchwahl: -2110
Zimmer: 431
Frau Möllers

Aktenzeichen
23.0835.1.0 (G 15/98)

28. Mai 1998

Betr.: Tierschutz;
hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 23.03.1998, hier eingegangen am 30.03.1998

Genehmigungsbescheid:

Sehr geehrter Herr Dr. Baas,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Neufassung vom 17. Februar 1993 (BGBl. I S. 254) in geltender Fassung wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

Der Einfluß von Ursodesoxycholsäure vermittelten hepato-pankreatischen Mikrozirkulationsänderungen auf den Verlauf der akuten Pankreatitis.

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr
Dr. med. Jens Christian Baas
Chirurgische Klinik & Poliklinik
Waldeyerstraße 1
48149 Münster

Herr
Prof. Dr. med. Norbert Senninger
Chirurgische Klinik & Poliklinik
Waldeyerstraße 1
48149 Münster

Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300

e-mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de ● X-400: C=de, A=dbp, P=dvs-nrw, O=bezreg-muenster, S=poststelle ● Telefax (0251) 411-2525

Konten der Regierungshauptkasse Münster:

Landeszentralbank Niederlassung Münster BLZ: 400 000 00 Konto: 40 001 520

Westdeutsche Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61 820

Öffentliche Verkehrsmittel - Buslinien 1, 5, 6, 17 bis Haltestelle Prinzipalmarkt und 2, 10, 11, 14, 21, 64 bis Domplatz

Diese Genehmigung gilt bis zum **31. 05. 2000**.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

200 Ratten.

Auflagen:

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig **vor** Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

Rechtsbehelfsbelehrung:

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag


(Dr. Piontkowski)