

**Aus dem Institut für Toxikologie und Pharmakologie im Zentrum für
Pharmakologie und Toxikologie der Universität Rostock**

Direktor : Prof. Dr. rer. nat. B. Hinz

**Der Einfluss von Natriumselenit bei wiederholter oraler
therapeutischer sowie prophylaktischer Applikation auf die durch
Dibutylzinndichlorid (DBTC) induzierte Pankreatitis an der Ratte**

Inauguraldissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Norman Görl

geboren am 25.08.1978 in Kühlungsborn

aus Rostock

Rostock, April 2008

Dekan: Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger

1. Gutachter: PD Dr. med. Jutta Merkord

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Robert Jaster

3. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. W. Halangk

Tag der Verleihung: 24.11.2008

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Zielstellung	1
1.2	Toxikologie von Dibutylzinndichlorid (DBTC)	2
1.3	Pankreatitis	5
1.3.1	Akute Pankreatitis	5
1.3.2	Chronische Pankreatitis	8
1.3.3	Experimentelle Pankreatitis	10
1.4	Selen	12
2.	Material und Methoden	18
2.1	Versuchstiere	18
2.2	Methoden	18
2.2.1	Behandlung der Versuchstiere	18
2.2.2	Bestimmung der Zinnkonzentrationen in Galle, Urin und Organen mittels Atomabsorptionsspektrometrie	22
2.2.3	Bestimmung pathobiochemischer Parameter im Serum	23
2.2.4	Makroskopie	24
2.2.5	Histologie	24
2.3	Angewendete Substanzen	25
2.4	Verwendete Abkürzungen	25
2.5	Biologische Statistik	26
3.	Ergebnisse	27
3.1	Der Einfluss täglicher oraler therapeutischer Natriumselenit- Applikationen auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte (Versuchsreihe 1)	27

3.1.1	Wirkungen von DBTC (6 mg/kg KG) nach einmaliger intravenöser Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen	27
3.1.2	Wirkungen von Natriumselenit bei täglicher oraler Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen	32
3.1.2.1	Natriumselenit 0,3 mg/kg KG täglich oral im Zeitraum von 28 Tagen	32
3.1.2.2	Natriumselenit 1,0 mg/kg KG täglich oral im Zeitraum von 28 Tagen	34
3.1.2.3	Natriumselenit 5,0 mg/kg KG täglich oral im Zeitraum von 28 Tagen	34
3.1.3	Wirkungen von Natriumselenit bei täglicher oraler therapeutischer Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen nach einmaliger intravenöser Applikation von DBTC (6 mg/kg KG)	36
3.1.3.1	DBTC + Natriumselenit 0,3 mg/kg KG täglich oral im Zeitraum von 28 Tagen	36
3.1.3.2	DBTC + Natriumselenit 1,0 mg/kg KG täglich oral im Zeitraum von 28 Tagen	40
3.1.3.3	DBTC + Natriumselenit 5,0 mg/kg KG täglich oral im Zeitraum von 28 Tagen	42
3.1.4	Wirkungen von Ethanol/Glycerol bei einmaliger intravenöser Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen	46
3.1.5	Grafische Gegenüberstellung der Ergebnisse aus Versuchsreihe 1	47
3.1.6	Zinnkonzentrationen in Galle, Urin und Leber, Pankreas, Thymus, Milz und Nieren nach einmaliger intravenöser Gabe von DBTC (6 mg/kg KG), Natriumselenit und DBTC + Natriumselenit im Zeitraum von 28 Tagen	51
3.1.6.1	DBTC 6 mg/kg KG einmalig i.v.	51

3.1.6.2	Natriumselenit 5 mg/kg KG p.o.	51
3.1.6.3	DBTC 6 mg/kg KG einmalig i.v + Natriumselenit 5 mg/kg KG täglich p.o.	51
3.2	Der Einfluss prophylaktischer Natriumselenit-Applikationen über 7 Tage auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte (Versuchsreihe 2)	52
3.2.1	Wirkungen von DBTC (6 mg/kg KG) nach einmaliger intravenöser Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen	52
3.2.2	Wirkungen von Natriumselenit bei täglicher oraler Applikation von 5 mg/kg KG über 7 Tage auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen	53
3.2.3	Wirkungen einer prophylaktischen täglichen oralen Natriumselenit-Applikation über 7 Tage auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen nach einmaliger intravenöser Applikation von DBTC (6 mg/kg KG)	53
3.2.4	Wirkungen von Ethanol/Glycerol bei einmaliger intravenöser Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen	57
3.2.5	Grafische Gegenüberstellung der Ergebnisse aus Versuchsreihe 2	58
4.	Diskussion	61
5.	Zusammenfassung	73
6.	Anhang	78
7.	Literaturverzeichnis	86
8.	Thesen	95
	Danksagung	97
	Selbständigkeitserklärung	98
	Lebenslauf	99

1. Einleitung

1.1 Zielstellung

Die Entzündung der Bauchspeicheldrüse ist eine Erkrankung, die von verschiedensten Fachdisziplinen in klinischen und experimentellen Studien seit Jahren untersucht wird. Vor allem die Pathogenese ist nach wie vor nicht vollständig aufgeklärt und dementsprechend auch das therapeutische Konzept der Pankreatitis nicht umfassend ausgereift.

Ein entscheidender pathogenetischer Faktor scheint der durch freie Sauerstoffradikale induzierte Zellschaden im Pankreas zu sein, der in zahlreichen wissenschaftlichen Publikationen postuliert wird (Sanfey et al. 1984, Braganza et al. 1988, Schoenberg et al. 1992, Sweiry et al. 1996).

Im Rahmen mehrerer Studien beschrieb auch die Arbeitsgruppe um Kuklinski die akute Pankreatitis als eine „Free Radical Disease“ mit einem gestörten Gleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien im Krankheitsverlauf. Therapeutisch verwies Kuklinski auf eine Natriumselenit-Applikation, um antioxidative Enzymsysteme wie die selenabhängige Glutathionperoxidase des Organismus zu unterstützen. Als Resultat dieser Untersuchungen zeigte sich bei Patienten mit akuter Pankreatitis unterschiedlicher Genese eine deutliche Reduktion der Letalitätsraten (Kuklinski et al. 1991, 1992, 1995).

Verschiedene Arbeitsgruppen untersuchten aufgrund dieser Ergebnisse an eigenen klinischen Studien ebenfalls den Einfluss der Natriumselenit-Gabe auf den Verlauf der akuten Pankreatitis. Am Ende konnte die durch Kuklinski beschriebene Letalitätssenkung durch Applikation von Natriumselenit nicht bestätigt werden (Stopinski et al. 1994, Lindner et al. 2004).

Ausgehend von diesen konträren Resultaten klinischer Studien soll mit vorliegender Arbeit in tierexperimentellen Versuchen der Einfluss von Selen auf die Entwicklung und den Verlauf akuter und chronischer Pankreatitiden untersucht werden.

Im Rahmen vorliegender experimenteller Versuche an Ratten wird versucht, Pharmakodynamik und Pharmakokinetik des Selens sowie mögliche Interaktionen mit der toxischen Organozinnverbindung Dibutylzinnchlorid (DBTC) und daraus

resultierende Effekte aufzuzeigen. Dazu wird sich eines etablierten tierexperimentellen Modells bedient, das bei Ratten durch Applikation von Dibutylzinndichlorid (DBTC) eine Pankreatitis induziert (Merkord et al. 1997, 1998).

Im Ergebnis sollen Ausblicke auf den klinischen Nutzen einer Natriumselenit-Applikation zur Therapie akuter und chronischer Pankreatitiden erbracht und Anknüpfungspunkte zur weiteren Forschung an Selen dargelegt werden.

1.2 Toxikologie von Dibutylzinndichlorid (DBTC)

Organozinnverbindungen wie das DBTC aus der Gruppe der Dialkylzinnverbindungen sind von hohem toxikologischen Interesse, da sie in der Industrie als Stabilisatoren zur Herstellung von Polyvinylchlorid (PVC) und in der Landwirtschaft als Biozide eingesetzt werden (Ross 1965, Piver 1973). Dibutylzinn (DBT) und Tributylzinn (TBT) wurden in Untersuchungen von PVC-Fußbodenbelägen auf deren Zinngehalt eindeutig nachgewiesen (Brian 2000), TBT diente lange Zeit als gebräuchlicher Zusatz zu Schiffsfarben, um Korrosion und Bewuchs am Rumpf zu vermeiden (Isensee et al. 1994) und wurde aufgrund der toxischen Eigenschaften per Gesetz 2003 als Bestandteil von Antifoulingfarben verboten. Tributylzinnoxid wird als Biozid in der Landwirtschaft eingesetzt und in der Folge zu Dibutylzinn umgewandelt. Im Rahmen dieser gewerblichen Nutzung reichern sich die Stoffe Dibutylzinn und Tributylzinn in der Umwelt an und können zu vielseitigen Schäden führen (Kimmel et al. 1977, Merkord 1994, Gies et al. 2000). In Untersuchungen der Universität Bonn konnte beispielsweise nachgewiesen werden, dass durch DBT und TBT in vitro die Bildung weiblicher Geschlechtshormone gemindert wird (Brian 2000).

DBTC entfaltet seine molekularbiologische Wirkung über eine Interaktion mit sulfhydrylhaltigen Molekülen verschiedenster Zellen und Rezeptoren des Organismus (Pieters et al. 1994).

Als Beispiel sei die Hemmung der Pyruvat- und α -Ketoglutaratdehydrogenase angeführt, welche zur Beeinträchtigung des Citratzyklus als zentraler Bestandteil des Zellstoffwechsels führt und dadurch die Atmungskette in den Mitochondrien behindert. Ursächlich ist dabei eine hemmende Reaktion des DBTC mit der SH-Gruppe der Liponsäure mit den zuvor beschriebenen Auswirkungen auf den Zellmetabolismus (Penninks et al. 1980, 1983, 1991).

Die akute Toxizität des DBTC, charakterisiert als mittlere letale Dosis (LD_{50}), beträgt für männliche Ratten im Mittel 62 mg/kg KG bei oraler Gabe und 16 mg/kg KG bei intravenöser Verabreichung, woraus folgt, dass bei Applikation dieser Dosen die Hälfte der Versuchstiere stirbt. DBTC ist ein sehr lipophiles Agens und wird dementsprechend gut resorbiert und verteilt sich vor allem in Leber, Milz, Pankreas und Thymus. Kennzeichnend sind die hohen Zinnkonzentrationen, die nach intravenöser Gabe von 8 mg/kg KG DBTC in diesen Organen gemessen wurden (Hennighausen et al. 1983).

Intrazellulär kumuliert DBTC vor allem im Zytoplasma und in Mikrosomen von Hepatozyten sowie in Lysosomen und Mitochondrien von Thymuszellen (Penninks et al. 1987).

Die durch DBTC hervorgerufenen Schädigungen sind vielfältig und manifestieren sich hauptsächlich an Leber, Pankreas, Gallengängen und dem Immunsystem verschiedener Tierspezies (Hennighausen et al. 1980, Merkord et al. 1982, 1983, 1989, 1991).

Die toxischen Eigenschaften der Dialkylzinnverbindungen hängen dabei von der Länge der Alkylketten ab. Während Alkylketten einer Länge von 2-6 C-Atomen am stärksten Schäden an Leber, Pankreas und Gallengängen hervorrufen, entfalten sich die Wirkungen von Dialkylzinnverbindungen mit 4-8 C-Atomen am ausgeprägtesten am Immunsystem (Stoner et al. 1955, Hennighausen et al. 1980). Die Alkylkettenlänge beeinflusst ebenfalls die Resorption und akute Toxizität im Organismus. In Abhängigkeit von der Kettenlänge variieren die Lipophilie und damit die Resorption nach oraler und dermalen Gabe, die Toxizität wird durch Zunahme der Länge der Alkylkette herabgesetzt (Hennighausen et al. 1980, Rehnhof et al. 1980, Penninks et al. 1991). Die Elimination der Organozinnverbindungen erfolgt durch Biotransformation vor allem in der Leber und Exkretion über Niere und Galle.

Die Biotransformation erfolgt durch membrangebundene Enzyme im endoplasmatischen Retikulum in der Leber - das Cytochrom P450-System -, welches auf verschiedene Weise in seiner Transformationsintensität durch Induktion und Hemmung beeinflusst werden kann. DBTC hemmt die Aktivität der Hämoxygenase und steigert somit den Cytochrom P450-Gehalt der Hepatozyten (Kappas et al. 1984). Lipophile Substanzen wie DBTC werden bevorzugt biliär über einen aktiven Transportmechanismus in die Galle ausgeschieden, wie Merkord et al. 1982 feststellten. Das mit dem Gallensaft in den Darm gelangte DBTC unterliegt teilweise

einem enterohepatischen Kreislauf, der mit Hilfe von Aktivkohle unterbrochen werden kann. Diesen Zusammenhang wiesen Merkord et al. 1982 anhand des abgefallenen Zinngehaltes in der Leber nach.

Nicht resorbierte Organozinnverbindungen werden ebenso wie die durch biliäre Exkretion eliminierten Anteile in den Faeces ausgeschieden (Penninks et al. 1987).

Im Vordergrund der toxischen Auswirkungen auf den Organismus steht die Auslösung einer akuten interstitiellen Pankreatitis nach intravenöser Applikation von 6 mg/kg KG DBTC. Die Pathogenese beruht auf einer hämatogenen und einer biliären Komponente. Durch über den Blutweg in das Pankreas transportiertes DBTC erfolgt eine direkte zytotoxische Schädigung der Azinuszellen. Das biliär eliminierte DBTC induziert eine Schädigung des Gallengangepithels mit Bildung von Zelldebris durch nekrotisches Material, welches zur Gangobstruktion führt. Daraus resultiert eine Cholestase mit DBTC-haltigem Gallereflux in Pankreas und Leber (Merkord et al. 1997).

Aus beiden Komponenten resultiert die Entstehung einer akuten interstitiellen Pankreatitis, die im Verlauf von 3-4 Wochen in eine chronische Pankreatitis übergeht. Morphologisch kann durch licht- und elektronenmikroskopische Betrachtung bereits nach 4 Stunden die Ausbildung eines Pankreaskopfdödems beobachtet werden. Nach 12 Stunden entstehen Nekrosen der Epithelzellen des Pankreasausführungsganges und eine Vakuolisierung der Azinuszellen. 1 Tag nach Applikation des DBTC stellt sich eine akute interstitielle Pankreatitis mit Zunahme der Cholestase in den Ausführungsgängen und daraus resultierender Dilatation des Galle-Pankreasganges dar.

Nach 4 Tagen dominiert eine ausgeprägte Pankreatitis mit Entzündungszellinfiltrationen, einer weiteren Zunahme des Durchmessers des Galle-Pankreasganges mit Zelldebris intraluminär und Verwachsungen im Gangsystem. Die Schwere der Entzündung verstärkt sich bis hin zur beginnenden Pankreasfibrose, anhaltender Gangobstruktion und Rückstau der Galle in Pankreas und Leber nach 3 bis 4 Wochen (Merkord et al. 1991, 1995, 1997).

Die Veränderungen in der Leber durch DBTC-Gabe manifestieren sich nach 1-4 Tagen durch einen Gallerückstau mit aufsteigender Entzündung im Periportalfeld und vereinzelter Nekrosen. Nach 4 Wochen stellen sich eine massive Periportalfeldentzündung, intrahepatische Gallengangshyperplasien und multiple Nekrosen in der Leber dar (Merkord et al. 1997).

Die Schädigung des Immunsystems äußert sich als reversible Thymusatrophie mit Reduktion der lymphatischen Zellen durch Hemmung der Thymozytenproliferation nach DBTC-Applikation, wobei sich nach 14 Tagen das Ausgangsgewicht des Thymus wieder einstellt (Hennighausen und Szymaniez 1990, Pieters et al. 1994, Gielen et al. 1995).

Die leicht durchführbare und reproduzierbare Auslösung einer akuten und chronischen Pankreatitis führte zur Etablierung eines tierexperimentellen Modells durch Applikation von 6 mg/kg KG DBTC einmalig intravenös (Merkord et al. 1997, 1998). Dieses Modell bildet den Grundstein vorliegender Arbeit.

1.3 Pankreatitis

Obwohl die Möglichkeiten in der Behandlung der Pankreatitis seit Jahren zunehmen und in vielen Bereichen ständiger Optimierung unterliegen, ist die Pathophysiologie und Pathogenese der akuten und chronischen Pankreatitis bis heute nicht zufriedenstellend aufgeklärt.

1.3.1 Akute Pankreatitis

Bei dem Krankheitsbild der akuten Pankreatitis handelt es sich um eine plötzlich auftretende Entzündung des Pankreas.

Morphologisch untergliedert sie sich in die mit 80-85% am häufigsten vorkommende interstitiell-ödematöse und die seltenere Form der hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis. Von Bedeutung ist der mögliche Übergang von der klinisch eher blande verlaufenden interstitiell-ödematösen Entzündung zur hämorrhagisch-nekrotisierenden Form mit einem Letalitätsrisiko von 10-40%.

Die Ursachen der akuten Pankreatitis sind mannigfaltig. Mit 60-70% stehen Gallensteinleiden als auslösende Noxe im Vordergrund, gefolgt von chronischem Alkoholabusus und selteneren Ursachen. Dazu zählen Medikamente wie Azathioprin, Störungen des Stoffwechsels wie zum Beispiel die Hyperlipidämie, Infektionen mit Pilzen und Viren und iatrogene Eingriffe, beispielsweise die diagnostisch und therapeutisch eingesetzte endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikografie (ERCP). Bei einem Großteil diagnostizierter Pankreatitiden kann keine Ursache als

Auslöser eruiert werden, so dass diese unter dem Begriff der idiopathischen Pankreatitis subsumiert werden (Büchler et al. 1996 und 2004, Mössner et al. 2004). Wie einleitend angeführt, ist die Pathogenese nach wie vor nicht vollständig bekannt. Entscheidend ist die vorzeitige Aktivierung der proteolytischen Pankreasenzyme am Ort der Synthese – in der Bauchspeicheldrüse. Ursache sind entweder die direkte Schädigung des Pankreas, vor allem im Rahmen metabolischer Auslösefaktoren, oder eine intraductal induzierte Aktivierung der Enzyme mit deren Übertritt in das Interstitium des Pankreas. Folgen sind eine Schädigung der Azinuszellen, die Entstehung eines interstitiellen Ödems und im Verlauf die Migration und Akkumulation von Entzündungszellen in das geschädigte Gewebe (Aho et al. 1982, Adler et al. 1984).

Diskutiert werden weiterhin ein möglicher Gallereflux in das Pankreasgangsystem, eine durch verklemmte Gallensteine bedingte Druckerhöhung im Sphincter Oddi oder eine alkoholinduzierte Erhöhung der Durchlässigkeit der Gangepithelien beziehungsweise eine direkte ethyltoxische Azinuszellschädigung (Büchler et al. 1996 und 2004, Mössner et al. 2004).

Möglicherweise spielen auch die vermehrte Bildung von Sauerstoffradikalen und/oder ein Antioxidantienmangel des Organismus eine wichtige Rolle in der Genese von Entzündungskrankheiten wie der Pankreatitis (Bulkley 1983, Sanfey et al. 1984, Braganza et al. 1988, Schoenberg et al. 1992 und 1994, Sweiry et al. 1996). Der Pathomechanismus, der zur Bildung dieser reaktiven Sauerstoffmoleküle führt, ist bis heute Gegenstand intensiver Forschungen.

Diskutiert wird in verschiedenen Publikationen die Entstehung der Sauerstoffradikale durch das Hypoxanthin-Xanthinoxidase-System, durch aktivierte PMN-Leukozyten und durch Biotransformation von Xenobiotika (Sanfey et al. 1985, Wisner et al. 1988, Schoenberg et al. 1990). Die freien Radikale führen nachfolgend zur Lipidperoxidation mit Schädigung der Zellmembranen und intrazellulären Organellen, was unweigerlich zum Zelltod führt. Auf weiterem Wege entstehen vermehrt chemotaktische Faktoren im Zytoplasma und es stellt sich eine Aktivierung des Arachidonsäurestoffwechsels ein. Als Resultat zeigt sich eine durch Entzündungszellenakkumulation und Permeabilitätsstörung in Endothelien bedingte Triggerung des zur Pankreatitis führenden Pathomechanismus (Freese et al. 1967, Stocks et al. 1971, Babior 1978, Björk et al. 1984, Marshall et al. 1984).

Am Ende aller pathogenetischen Sequenzen stellt sich das gleiche morphologische Bild ein, das vom interstitiellen Ödem bis hin zur völligen Organnekrose reicht. Folgen sind Verlust von Flüssigkeit ins Retroperitoneum bis hin zum Volumenmangelschock und vielfältige Organschädigungen durch Übertritt aktivierter Pankreasenzyme, Kinine und Toxine ins Blut. So zeigen sich an der Leber nekrotische Veränderungen, an Lunge Diffusionsstörungen durch Ödembildung und Surfactantzerstörung, Nierenversagen und seltener Myokardnekrosen sowie Ödembildung im ZNS.

Durch einen Übertritt verschiedener Toxine in die Bauchhöhle wird eine lokale oder diffuse Peritonitis induziert, ein paralytischer Ileus ist nahezu obligat im Verlauf der Erkrankung. Die Letalität der akuten Pankreatitis steigt vor allem aufgrund einer gefürchteten Infektion auftretender Organnekrosen mit sich ausbildenden Abszessen und der Entstehung einer Sepsis. Außer der daraus resultierenden exokrinen Pankreasinsuffizienz mit unterschiedlich stark ausgeprägten Maldigestionserscheinungen manifestiert sich bei schweren Verläufen eine endokrine Insuffizienz, gekennzeichnet durch absoluten Insulinmangel auf Grundlage zerstörter Inselzellen des Pankreas.

Klinisch imponieren an erkrankten Patienten vor allem die elastische Abwehrspannung des Abdomens („Gummibauch“), die spärlichen bis fehlenden Darmgeräusche als Hinweis auf den paralytischen Ileus und die akute Schmerzsymptomatik im Oberbauch.

Diagnostisch richtungweisend sind neben der Anamnese und klinischen Untersuchung bildgebende Verfahren wie die Sonografie des Abdomens, die Computertomografie und die ERCP. Laborchemisch dominieren ein starker Anstieg der Serum-Amylase sowie Lipase, des CRP und der Leukozyten.

Im Vordergrund der Therapie sollte wenn möglich die Beseitigung der Ursache der Pankreatitis stehen, zum Beispiel bei biliärer Genese durch eine ERCP mit Papillotomie. Symptomatisch erfolgt die Behandlung durch ausreichende Volumensubstitution, Analgosedierung und Nahrungskarenz. Bei nachgewiesenen Organnekrosen sollte die Vermeidung von Infektionen durch Antibiotikagabe erreicht werden. Anderenfalls wird bei infizierten Nekrosen die chirurgische Intervention notwendig, die ebenfalls bei Pankreasabszessen indiziert ist, um diese gefürchteten Komplikationen zu therapieren. Bei der am häufigsten vorkommenden ödematösen Pankreatitis, die keine Komplikationen aufweist, liegt die Letalität unter 5%, bei einhergehenden Teilnekrosen und ein bis zwei extrapankreatischen

Organmanifestationen steigt die Letalität auf 10-50% und erreicht den Höhepunkt von über 80% bei Totalnekrose des Pankreas und drei bis vier extrapankreatischen Organkomplikationen. Ansonsten heilt die akute Pankreatitis mit einer Restitutio ad integrum, bei Auftreten von Nekrosen mit Vernarbungszonen aus, oder kann in die chronische Erkrankungsform übergehen (Büchler et al. 1996 und 2004, Mössner et al. 2004).

1.3.2 Chronische Pankreatitis

Im Gegensatz zur akuten Form ist die chronische Pankreatitis durch anhaltende morphologische und funktionelle Veränderungen gekennzeichnet, die bis zu einem Terminalstadium, wie der Pankreasfibrose und Pankreasinsuffizienz, stetig fortschreiten kann.

Die Hauptursache für die Entstehung der Erkrankung ist langjähriger Alkoholabusus mit einer zugeführten Menge Alkohol von >20g bei Frauen und > 60g bei Männern pro Tag. Es existieren verschiedene Hypothesen zur alkoholinduzierten Pankreatitis:

- Nach Braganza ist die Leber durch die Doppelbelastung durch Industrieabgase und Alkohol unfähig, freie Radikale vollständig zu eliminieren, die die Azinuszellen schädigen (Braganza et al. 1988).
- Nach Sarles wird durch den Alkoholkonsum die Synthese des Proteins Lithostatin im Pankreas gehemmt, welches die Pankreasenzyme in Lösung hält. Folge sind verkalkende Proteinpräzipitate, die die Ausführungsgänge verstopfen. Durch die Druckatrophie kommt es zur Nekrose des Pankreasparenchyms (Sarles et al. 1971, 1981, 1986, 1991).
- Nach Bordalo entsteht durch den Alkohol eine fettige Degeneration der Pankreasazini (Bordalo et al. 1977).
- Nach Klöppel führt der Alkohol zur Nekrose der Azini, die in der Folge durch Bindegewebe ersetzt werden (Klöppel et al. 1992 und 1993).

Seltenere Ätiologien sind eine hereditäre Pankreatitis, weitere metabolische Faktoren, wie die Hyperkalzämie, und anatomische Varianten, wie das Pancreas divisum und Papillenstenosen (Bordalo et al. 1977, Horiuchi et al. 1996, Ito et al. 1997). Klöppel und Maillat postulierten 1992 eine Nekrose-Fibrose-Sequenz, und verdeutlichen damit, dass schwere akute Pankreatitiden die Genese einer chronischen Pankreatitis bedingen können.

Auch ein immunologisch vermittelter Pathomechanismus ist nicht auszuschließen (Emanuelli et al. 1989, Hunger et al. 1997, Emmrich et al. 1998).

Ebenso wie bei der akuten Pankreatitis wird bei der Entstehung der chronischen Entzündung der Bauchspeicheldrüse eine Beteiligung durch toxische Sauerstoffradikale diskutiert (Braganza et al. 1988, Guyan et al. 1990).

Letztlich ist ebenso wie bei der akuten Pankreatitis der genaue Pathomechanismus, der zur Entstehung der chronischen Pankreatitis führt, nicht eindeutig aufgeklärt.

Klinische Leitsymptome der chronischen Pankreatitis sind die Schmerzen im Abdomen, Maldigestionserscheinungen wie Steatorrhoe mit Gewichtsverlust und der Diabetes mellitus.

Während im Frühstadium eher uncharakteristische Oberbauchbeschwerden angegeben werden, entstehen im Krankheitsverlauf wiederkehrende plötzliche Schmerzattacken bis hin zu starken Dauerschmerzen, die einer medizinischen Behandlung bedürfen und als akuter Schub einer chronischen Pankreatitis bezeichnet werden. Im Spätstadium der Erkrankung manifestiert sich eine ausgeprägte exokrine und endokrine Pankreasinsuffizienz. Laborchemisch kommen bei akuten Schüben einer chronischen Pankreatitis die Enzymanstiege wie bei der akuten Pankreatitis zum Tragen.

Im weiteren Krankheitsverlauf fehlt durch den Parenchymschwund des Pankreas das Substrat für schwer verlaufende Schübe, so dass die Laborparameter keine oder nur geringe Elevationen aufweisen. Zur Beurteilung der Pankreasinsuffizienz können der Sekretin-Cholezystokinin-Test und die Bestimmung der Pankreaselastase und des Chymotrypsins im Stuhl herangezogen werden, um eine exokrine Dysfunktion zu diagnostizieren.

Für die Abschätzung der endokrinen Pankreasfunktion wird sich der Diagnostik des Diabetes mellitus bedient, wozu beispielsweise der orale Glucose-Toleranztest oder die Bestimmung des HbA_{1c} zählt. Zur morphologischen Abschätzung der Schwere der Erkrankung dienen die Oberbauchsonografie, die Computertomografie und

gegebenenfalls die Magnetresonanztomografie. Hinweise auf die chronische Pankreatitis geben bei diesen Verfahren Verkalkungen, Pseudozysten und Hauptgangserweiterungen.

Der einzige kausale Therapieansatz ist die völlige Vermeidung der auslösenden Noxe, um je nach Schwere der Erkrankung eine Restfunktion des Pankreas zu erhalten. Symptomatisch besteht nur die Möglichkeit der Minimierung der im Vordergrund stehenden rezidivierenden Schmerzen und die Substitution fehlender Pankreasenzyme, Vitamine und des Insulins. Zu den am häufigsten auftretenden Komplikationen der chronischen Pankreatitis zählen die Stenosen des Ductus choledochus und die Pankreaspseudozysten. Im Gegensatz zur akuten Pankreatitis bilden diese sich selten zurück, stellen aber primär keine Gefährdung des Patienten dar. Erst bei Überschreiten einer bestimmten Größe (6 cm) ist ein chirurgisches Eingreifen indiziert, da als häufige Komplikation die Kompression des Duodenums oder des Gallengangs auftreten. Weiterhin möglich ist in 5-10% der Fälle alkoholinduzierter chronischer Pankreatitiden die Entstehung eines Pankreaskarzinoms (Büchler et al. 1996 und 2004, Mössner et al. 2004).

1.3.3 Experimentelle Pankreatitis

Die bis heute nicht vollständig aufgedeckten Pathomechanismen, die zur Entstehung der Pankreatitis führen, bedingen ein reges Interesse an tierexperimentellen Modellen zur näheren Untersuchung der Erkrankung. Im Folgenden sollen die zurzeit etablierten tierexperimentellen Pankreatitismodelle an Ratten und Mäusen vorgestellt werden:

- Pankreatitis durch retrograde Injektion verschiedener Substanzen in den Pankreasgang

Am weitesten verbreitet ist die Induktion einer hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis durch Natriumtaurocholat- und Galleinjektion (Beck et al. 1964, Ohlson et al. 1985, Creutzfeld 1987, Lankisch et al. 1987, Kimura et al. 1992). Des Weiteren sind die Applikation von Trypsin, Lipase, Elastase und Phospholipase A von Bedeutung (Anderson et al. 1969, Geokas et al. 1969, Schmidt et al. 1969). Durch die verabreichten Noxen entstehen innerhalb kurzer Zeit Schäden der apikalen Zellmembranen und Zerstörung der Azinuszellen, die

zum Bild der mit dem Menschen vergleichbaren hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis führen.

- Pankreatitis durch Duodenalligatur

Zur Induktion einer nekrotisierenden Pankreatitis wird dieses von Seidel und Pfeffer entwickelte Modell genutzt, bei dem mit Hilfe einer chirurgisch verschlossenen Duodenalschlinge durch Reflux in den Pankreasgang eine Pankreatitis ausgelöst werden kann (Seidel 1910, Pfeffer et al. 1957).

- Chirurgische Blockade der Sekretion

Ein Modell zur Simulation einer Gallensteinpankreatitis wurde durch Lerch et al. etabliert. Hierbei entsteht durch Ligatur des Sphincter Oddi eine Flussbehinderung des Pankreassekrets in das Duodenum mit Induktion einer Pankreatitis am amerikanischen Beuteltier beziehungsweise einer Atrophie der Bauchspeicheldrüse bei allen anderen Laborspezies (Lerch et al. 1993 und 1994, Gukovskaya et al. 1996).

- Caerulein-induzierte Pankreatitis

Das am weitesten verbreitete experimentelle Modell zur Auslösung einer akuten Pankreatitis ist durch intravenöse oder intraperitoneale Applikation von 5µg/kg/h Caerulein induzierbar. Infolgedessen entwickelt sich eine selbstlimitierende milde akute interstitielle Pankreatitis (Lampel et al. 1977, Adler et al. 1979).

- Pankreatitis durch Cholin-Defizit-Ethionin-Ergänzungsdiät

Mit Hilfe der Cholin-Defizit-Ethionin-Ergänzungsdiät wird nach 3 Tagen eine hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis ausgelöst, die im Verlauf von circa 1 Woche letal endet (Lombardi et al. 1975, Rao et al. 1976).

- Dibutylzinndichlorid (DBTC)-induzierte Pankreatitis

Von der Arbeitsgruppe Merkord et al. wurde 1997 ebenfalls ein leicht reproduzierbares Modell zur Induktion einer akuten interstitiellen Pankreatitis beschrieben. Durch Gabe von 6 mg/kg KG DBTC einmalig intravenös kann innerhalb von 4 Tagen eine akute Pankreatitis ausgelöst werden, die im Zeitraum von 4 Wochen in eine chronische Pankreatitis übergehen kann (Merkord et al. 1997).

1.4 Selen

Auf der Suche nach lebensnotwendigen Nahrungsbestandteilen entdeckte Klaus Schwarz 1957 das essentielle Spurenelement Selen, welches in tierexperimentellen Versuchen eine akute Leberdystrophie verhindern konnte (Schwarz et al. 1957). Der Wirkungsmechanismus blieb aber für die folgenden 15 Jahre unbekannt. Als erstes echtes Selenoprotein wurde dann die Glutathionperoxidase bei Säugetieren identifiziert, dessen Funktion als antioxidatives Enzym im Stoffwechsel bereits bewiesen war, so dass damit auch die Aufgabe des Selens als aufgeklärt galt (Flohe 1989). Mittlerweile wurden mehrere Enzyme als selenabhängig erkannt und beschrieben (Behne et al. 1995, Schrauzer 1998):

- 4 Glutathionperoxidasen, wovon 3 eine vergleichbare chemische Struktur besitzen und 4 Atome Selen in der Form des Selenocystein enthalten. Zum einen die klassische Glutathionperoxidase (GSH-Peroxidase) mit höchster Konzentration in Leber und Erythrozyten, eine gastrointestinale GSH-Peroxidase und eine Plasma-GSH-Peroxidase. Sie verhindern die Entstehung von freien Radikalen durch Reduktion von Wasserstoffperoxiden und Lipidhydroperoxiden, die beim Fettabbau entstehen. Hinzu kommt die Phospholipid-Hydroperoxid-GSH-Peroxidase, die der spezifischen Reduktion membrangebundener Phospholipidperoxide dient.
- Die 5'-Jod-Tetraiodthyronin-Dejodase, die für die Überführung des biologisch inaktiven Tyroxin in Trijodthyronin verantwortlich ist.
- Das Selenoprotein P, dessen Funktionen noch diskutiert werden, wird in der Leber synthetisiert und ins Plasma abgegeben. Untersuchungen deuten daraufhin, dass es als Transportprotein für Selen im Organismus dient und ebenfalls über antioxidative Fähigkeiten verfügt.
- Weitere erst kürzlich entdeckte Selenoproteine mit nicht näher aufgedeckter Funktion sind das Selenoprotein W der Skelettmuskulatur, ein in der Mitochondrienmembran von Spermien vorhandenes Selenoprotein und die Thioredoxin-Reduktase.

Aber nicht nur als Bestandteil körpereigener Enzyme ist das Selen essentiell, sondern auch im Rahmen der Regulation inflammatorischer Reaktionen spielt es eine entscheidende Rolle. Der redoxensitive Transkriptionsfaktor NF- κ B ist der zentrale Regulator inflammatorischer Antworten im Organismus, der durch TNF- α , Phospholipase A₂ und reaktive Sauerstoffspezies aktiviert wird und zur Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine führt. Selen zeigte bei Versuchen *in vitro* eine inhibierende Wirkung auf NF- κ B und unterdrückt damit inflammatorische Reaktionen. Im Gegensatz dazu aktiviert Selen aber den ebenfalls redoxsensitiven Faktor AP-1, der durch IL-6, TNF- α und reaktive Sauerstoffspezies aktiviert wird und in der Leber zur Synthese proinflammatorischer Mediatoren führt (Zimmermann et al. 2000).

Infolgedessen ist das Gleichgewicht zwischen beiden Faktoren von entscheidender Bedeutung (Abb. 1). Durch Gabe von Natriumselenit kommt es zum Verlust des NF- κ B in mononukleären Zellkernen und damit zum Überwiegen der AP-1 vermittelten Reaktionen, die aber zu geringeren inflammatorischen Antworten führen, während die NF- κ B-Aktivierung eine massive inflammatorische Reaktion des Organismus nach sich ziehen würde, die durch AP-1 nicht kompensiert werden kann.

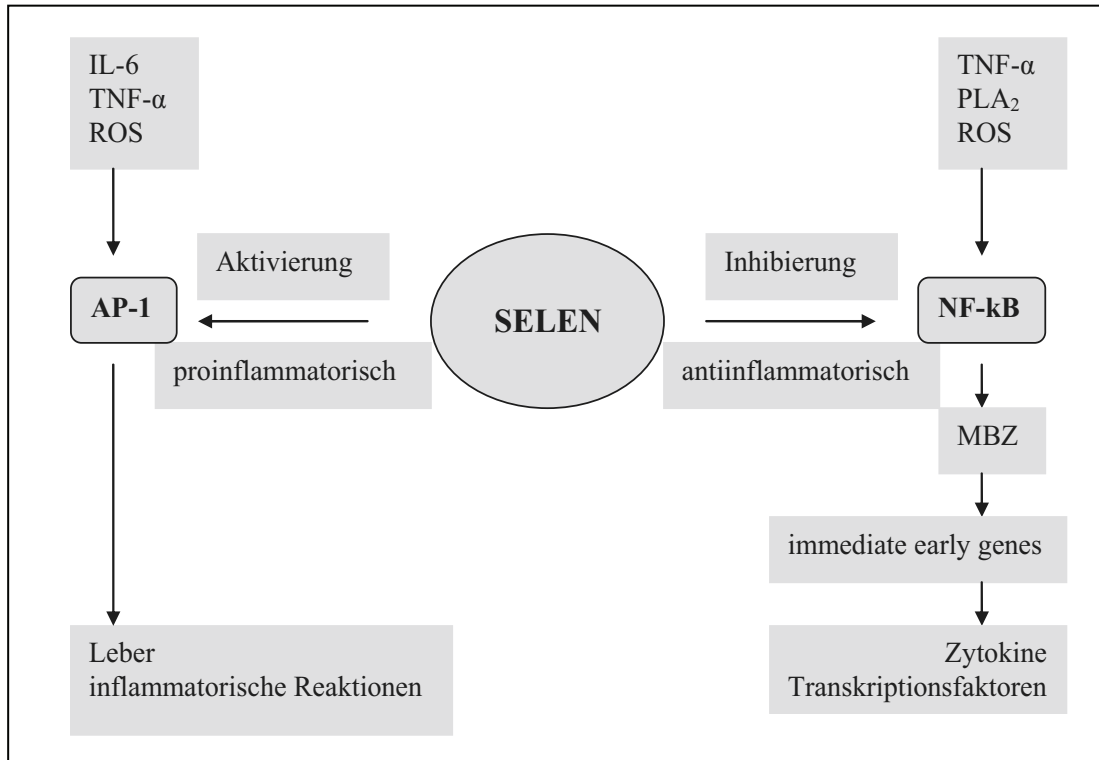


Abb. 1: Möglicher Einfluss von Selen auf die Aktivierung und Inhibition von Transkriptionsfaktoren

Die Auswirkungen einer Gabe von Selenverbindungen auf Krebserkrankungen werden seit vielen Jahrzehnten diskutiert. In mehreren Studien wurde seit 1949 aufgezeigt, dass Selen malignes Wachstum in tierexperimentell erzeugten Tumoren hemmt (Combs et al. 1984).

Die Hauptaufgabe des Selens, als integraler Bestandteil antioxidativer Enzyme, besteht demnach in der Schutzfunktion des Körpers vor schädigenden Oxidationsvorgängen durch Reduktion verschiedenster Peroxide, die mit der Nahrung aufgenommen oder im Organismus gebildet werden. Des Weiteren erreicht Selen durch Beeinflussung redoxsensitiver Transkriptionsfaktoren eine Hemmung inflammatorischer Reaktionen und spielt eine noch nicht näher definierte Rolle in der Verhinderung malignen Wachstums.

Um Selenmangelzustände zu vermeiden, ist eine Aufnahme von bis zu 100 µg pro Tag notwendig (Deutsche Gesellschaft für Ernährung 1984).

Während der Selengehalt in deutschen Böden relativ niedrig ist (Hartfiel et al. 1987), bestehen hohe Selenkonzentrationen in pflanzlicher und tierischer Nahrung, beispielsweise in Fisch, Huhn, Schwein und Eigelb, deren Verzehr ausreicht um den empfohlenen Selenbedarf zu decken (Oster et al. 1988). In pflanzlichen Nahrungsmitteln ist Selen hauptsächlich in Form der Selenoaminosäuren Selenomethionin und Selenocystein oder -cystin gebunden, in tierischen Produkten enthalten die Selenoproteine Selen ebenfalls als Selenocystein und Selenocystin (Oster et al. 1988).

Zur Aufnahme des Spurenelements aus dem Gastrointestinaltrakt ins Blut wurden mehrere Bilanzstudien durchgeführt, die zeigen, dass organische (Selenoaminosäuren) und anorganische (Selenat, Selenit) Selenverbindungen effizient resorbiert werden (Wolffram 1995). Während der Transport von Selenat aktiv durch zwei spezifische Transportsysteme, einem Na^+ /Selenat-Cotransport und einem Selenat/OH⁻-Austauscher, im distalen Dünndarm erfolgt, scheint der Resorption von Selen aus Selenit ein passiver Transport zugrunde zu liegen. Im Gegensatz zu den anorganischen Verbindungen werden die Selenoaminosäuren über Aminosäurecarrier der Bürstensaummembran aus dem Dünndarm ins Blut aufgenommen (Wolffram 1995). Nach der Absorption gelangt Selen zunächst in die Erythrozyten, wo es in eine Form umgewandelt wird, die den Transport im Blut durch Bindung an ein

Plasmaprotein, möglicherweise Selenoprotein P, ermöglicht. Die Serum-selenkonzentration in Deutschland liegt im Mittel bei 75 µg/l mit einer Variationsbreite von 40 bis 100 µg/l. Im Rahmen der Verteilung im Organismus reichert sich Selen in unterschiedlichen Konzentrationen in allen Organen an, wobei die höchsten Werte in Nieren, Schilddrüse und Leber gemessen wurden und vergleichsweise niedrige Spiegel in der Skelettmuskulatur (Schrauzer 1998).

Die Elimination erfolgt beim Menschen durch Biotransformation in der Leber und kann nach einer initial schnellen Phase bis zu 100 Tagen andauern. Ausscheidungsprodukte sind Trimethylselenit, welches mit dem Urin abgegeben wird, und vor allem bei hohen Selenspiegeln im Organismus das Dimethylselenit, das über die Lunge eliminiert wird und den charakteristischen knoblauchartigen Geruch bei Vergiftungen bewirkt (Högberg et al. 1990).

Zur Beurteilung des Selenstatus eignet sich die Bestimmung des Selens in Serum, Vollblut und Erythrozyten (Gramm et al. 1995). Bei einer Normalversorgung mit Selen steht ausreichend Selen für die Synthese einer adäquaten Glutathionperoxidaseaktivität zur Verfügung. Erst bei Serumkonzentrationen unter 30 µg/l kann eine Beeinträchtigung der Enzymaktivität vom Selenstatus beobachtet werden (Siegers et al. 1994).

Im Jahre 1907 trat im Landkreis Keshan in China erstmals eine endemische Kardiomyopathie auf, die vor allem Kinder und Jugendliche befiel und zur Nekrose und Fibrose des Myokards führte. Durch Auftreten von Arrhythmien, akutem Herzversagen und Lungenödem folgte innerhalb von 24-48 h nach Beginn der Symptomatik der Tod. Die Ursache der als Keshan-Krankheit bezeichneten Todesfälle wurde erst in den Jahren 1965 und 1966 aufgedeckt und ein Selenmangel in den dort landwirtschaftlich genutzten Böden festgestellt, der eine mangelhafte Selenaufnahme durch die Bevölkerung nach sich zog und zu peroxidativer Schädigung am Herzen führte (Laryea et al. 1988, Schrauzer 1998).

Eine ebenfalls in China verbreitete Krankheit, der ein Selenmangel zu Grunde liegt, ist das Keshan-Beck-Syndrom mit durch Sauerstoffradikale zerstörten Gelenken und folgenden starken Gelenkverformungen (Li et al. 1984, Schrauzer 1998).

Weitere Studien zeigen auf, dass ein erniedrigter Selenserumspiegel ebenfalls zu einer erhöhten Inzidenz von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, wie Myokardinfarkt und

Atherosklerose, Tumorerkrankungen, beispielsweise in Nasopharynx, Leber und Lunge, Niereninsuffizienz und gastrointestinalen Krankheitsbildern führt (Siegiers et al. 1994).

Auch zur Toxizität von Selen wurden erste Hintergründe in den 60er Jahren in Provinzen Chinas aufgedeckt. Dort kam es ernährungsbedingt zu Massenvergiftungen, indem nach Düngung der landwirtschaftlichen Nutzflächen mit stark selenhaltiger Kohleasche der geerntete Mais als Hauptnahrungsmittel an die Bevölkerung verteilt wurde (Schrauzer 1998).

Hauptsymptome der akuten Selenvergiftung manifestieren sich an Haut und Schleimhäuten als orange-braune Verfärbung (Aldermann et al. 1986, Schellmann et al. 1986) und im Respirationstrakt als starke Schleimhautreizungen, Bronchitis, Pneumonie, Lungenödem und einem charakteristischen knoblauchartigen Atem (Schellmann et al. 1986).

Des Weiteren werden Gastroenteritiden, Myalgien, Leberschäden und Herzrhythmusstörungen beschrieben (Fan et al. 1990). Im Zuge einer chronischen Vergiftung mit Selen steht eine eher unspezifische Symptomatik im Vordergrund, die mit Störungen des Zentralen Nervensystems (Nervosität, Depression), Brüchigkeit von Fingernägeln, Haarausfall, verstärkter Karies und Lungenschäden einhergeht (Aldermann et al. 1986, Högberg et al. 1990). Selen besitzt im Vergleich zu anderen Spurenelementen eine relativ geringe therapeutische Breite, bereits ab der zehnfachen empfohlenen Tagesdosis ist mit akuten Vergiftungserscheinungen zu rechnen (Olseon 1986). Aus diesem Grunde wird die Einführung der Rezeptierung von Selen als Therapeutikum von vielen Autoren erwogen.

Sicher ist, dass die einmalige orale Aufnahme von 0,05 mg/kg KG Selen keine toxischen Auswirkungen nach sich zieht und bei längerer täglicher Selensubstitution maximal 5 µg/kg Körpergewicht als Applikation möglich sind (Siegiers et al. 1994). Erste toxische Wirkungen treten ab Aufnahme von 1 mg Selen am Tag auf (Xang et al. 1989), die durch Steigerung der Dosis auf 5 mg Selen pro Tag zu den bereits beschriebenen Schäden an Gastrointestinaltrakt, Haut, Haaren, ZNS und Fingernägeln führen können (Högberg et al. 1990).

Als Therapeutikum wird Selen in Form des Natriumselenits für verschiedenste medizinische Indikationen anerkannt (Bundesgesundheitsamt 1992). Allen gemein ist die Voraussetzung eines nachgewiesenen Selenmangels bei den zu behandelnden Patienten. In mehreren Studien wird der Nutzen der Therapie diskutiert.

Erfolge bei der Behandlung der akuten Pankreatitis zeigen Studien der Arbeitsgruppe um Kuklinski, Zelck und Wollschläger (Kuklinski et al. 1991, 1992, 1995, Zelck et al. 1993, Wollschläger et al. 1997).

Im Rahmen anderer Erkrankungen, die mit oxidativem Stress einhergehen, wie zum Beispiel bei Sepsispatienten, erzielt die Natriumselenit-Substitution ebenfalls eine klinische Relevanz, die zur deutlichen Milderung der Krankheitsverläufe mit Reduktion der Letalitätsraten führt (Zimmermann et al. 1997 und 2000, Gärtner et al. 1997, Forceville et al. 1999). Auch die Wirksamkeit einer Selengabe bei Vergiftungen mit verschiedenen Metallen gilt als bewiesen, insbesondere als Antidot bei Quecksilbervergiftungen (Schrauzer 1990 und 1998, Wu et al. 1990).

Mit der vorliegenden Dissertation soll ein tierexperimenteller Beitrag zur kontroversen Diskussion über die Selensubstitution bei Patienten mit Pankreatitis, Sepsis und auch als Antidot bei Vergiftungen mit Organometallen erbracht und Anknüpfungspunkte zur weiteren Forschung aufgezeigt werden.

2. Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Verwendet wurden männliche Charles-River Ratten (Charles River Laboratories Hannover), Inzucht, Alter 8-10 Wochen, mit einem Ausgangsgewicht von 120-150 g.

2.2 Methoden

2.2.1 Behandlung der Versuchstiere:

Den Ratten applizierten wir in allen Versuchsreihen DBTC intravenös über die Schwanzvene. Das DBTC wurde aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften zur Injektion zunächst in 2 Teilen 100% Ethanol gelöst und mit 3 Teilen Glycerol weiter verdünnt. Von der erhaltenen Lösung verabreichten wir den Versuchstieren jeweils 0,2 ml/100g Körpergewicht.

Untersuchung des Einflusses täglicher oraler therapeutischer Natriumselenit-Applikationen auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte (Versuchsreihe 1):

In der 1. Versuchsreihe erhielten Tiere bestimmter Versuchsgruppen Natriumselenit allein oder in Kombination mit DBTC in verschiedenen Konzentrationen täglich oral über eine Schlündelsonde. Das Natriumselenit wurde zur Applikation in 0,9% Natriumchlorid gelöst. Als Kontrollgruppe diente eine Versuchsgruppe, der ein Lösungsgemisch aus Ethanol und Glycerol (in einem Verhältnis von 2:3) einmalig i.v. verabreicht wurde.

Von den jeweils erhaltenen Lösungen verabreichten wir den Versuchstieren jeweils 0,2 ml/100g Körpergewicht.

Untersuchung des Einflusses täglicher oraler prophylaktischer Natriumselenit-Applikationen über 7 Tage auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte (Versuchsreihe 2):

In der 2. Versuchsreihe wurden zur Untersuchung des Einflusses prophylaktischer Natriumselenit-Gaben außer DBTC allein und Natriumselenit allein Tieren einer Versuchsgruppe 7 Tage vor der DBTC-Applikation täglich Natriumselenit oral über eine Schlündelsonde verabreicht, welches zur Applikation in 0,9% Natriumchlorid verdünnt wurde. Als Kontrollgruppe diente eine Versuchsgruppe, der ein Lösungsgemisch aus Ethanol und Glycerol (in einem Verhältnis von 2:3) einmalig i.v. verabreicht wurde.

Von den erhaltenen Lösungen verabreichten wir den Versuchstieren jeweils 0,2 ml/100g Körpergewicht.

Am 7. Tag erfolgte die DBTC-Applikation einmalig i.v., ab diesem Zeitpunkt beginnt Tag 0 der Versuchsreihe für alle enthaltenen Versuchsgruppen.

Die Dauer beider Versuchsreihen betrug jeweils 4 Wochen. Zum Zweck der Organentnahme und histologischen Aufarbeitung töteten wir ausgewählte Ratten 4, 7, 14 und 28 Tage nach Versuchsbeginn.

Die Serumentnahme zur Bestimmung der Aktivität von Amylase und Lipase erfolgte aus dem Retroorbitalplexus der Versuchstiere der 1. Versuchsreihe 1, 2, 7, 14 und 28 Tage nach Versuchsbeginn, in der 2. Versuchsreihe wurde die Lipase 1, 2 und 7 Tage nach Versuchsbeginn bestimmt.

Die Aktivität von Alkalischer Phosphatase, ASAT und ALAT sowie die Serumkonzentrationen des Bilirubin ermittelten wir 4, 7, 14 und 28 Tage, die des Malondialdehyds 2, 4, 6 und 24 h nach Versuchsbeginn durch Blutentnahmen aus dem Retroorbitalplexus der Versuchstiere. Die Messung der Serumkonzentration der Hyaluronsäure erfolgte 7, 14 und 28 Tage nach Versuchsbeginn. Die Tiere hielten keine Nahrungskarenz ein.

Der Einfluss täglicher oraler therapeutischer Natriumselenit-Applikationen auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte (Versuchsreihe 1):

1. Versuchsgruppe 1 (DBTC):

DBTC wurde den Ratten in folgender Dosierung appliziert:

- a) 6 mg/kg KG i.v. einmalig bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6

2. Versuchsgruppe 2 (Natriumselenit):

Natriumselenit wurde den Ratten in folgender Dosierung appliziert:

- a) 0,3 mg/kg KG täglich p.o. bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6
- b) 1,0 mg/kg KG täglich p.o. bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6
- c) 5,0 mg/kg KG täglich p.o. bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6

3. Versuchsgruppe 3 (DBTC und Natriumselenit):

Kombinationen aus DBTC und Natriumselenit wurden den Ratten in folgender Dosierung appliziert:

- a) 6 mg/kg KG DBTC i.v. einmalig + 0,3 mg/kg KG Natriumselenit
täglich p.o. bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6
- b) 6 mg/kg KG DBTC i.v. einmalig + 1,0 mg/kg KG Natriumselenit
täglich p.o. bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6
- c) 6 mg/kg KG DBTC i.v. einmalig + 5,0 mg/kg KG Natriumselenit
täglich p.o. bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6

Das Natriumselenit wurde den Versuchstieren der Kombinationsgruppen am 1. Tag 10 min nach intravenöser DBTC-Gabe verabreicht und die Applikation dann täglich gewichtsadaptiert fortgeführt.

4. Versuchsgruppe 4 (Kontrollgruppe Lösungsgemisch):

Der Kontrollgruppe wurde Ethanol / Glycerol in folgender Dosierung appliziert:

- a) Ethanol / Glycerol i.v. einmalig bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6

Der Einfluss täglicher oraler prophylaktischer Natriumselenit-Applikationen über 7 Tage auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte (Versuchsreihe 2):

1. Versuchsgruppe 1 (DBTC):

DBTC wurde den Ratten in folgender Dosierung appliziert:

- a) 6 mg/kg KG i.v. einmalig bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6

2. Versuchsgruppe 2 (Natriumselenit):

Natriumselenit wurde den Ratten in folgender Dosierung appliziert:

- a) 5 mg/kg KG täglich p.o. über 7 Tage bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6

3. Versuchsgruppe 3 (DBTC und Natriumselenit):

Prophylaktische tägliche orale Natriumselenit-Applikation über 7 Tage und anschließende einmalige intravenöse DBTC-Applikation:

- a) 5 mg/kg KG Natriumselenit täglich p.o. über 7 Tage und
6 mg/kg KG DBTC einmalig i.v. bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6

1 h nach letzter Natriumselenit-Gabe erfolgte am 7. Tag die Applikation von 6 mg/kg KG DBTC i.v. einmalig

4. Versuchsgruppe 4 (Kontrollgruppe Lösungsgemisch):

Der Kontrollgruppe wurde Ethanol / Glycerol in folgender Dosierung appliziert:

- a) Ethanol / Glycerol i.v. einmalig bei einer Versuchsdauer von 4 Wochen
n = 6

2.2.2 Bestimmung der Zinnkonzentrationen in Galle, Urin und Organen

mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) :

Prinzip:

Die Methode der AAS beruht auf der flammenlosen Atomabsorption mit einem Atomabsorptionsspektrometer (Fa. GBC; Typ GBC 908 AA). Für die Messung erfolgte der Probenaufschluss in 65% Salpetersäure (Fa. Merk, suprapur) im Mikrowellen-Druckaufschlussgerät (Fa. Vürner Analystechnik; Typ PMD). Zur Analyse im AAS-Gerät wurden die gewonnenen Proben mit Reinstwasser auf 10 ml aufgefüllt.

Bei einer Wellenlänge von 286,5 nm, einer Spaltbreite von 0,6 nm und einer Atomisierungstemperatur von 2400° C erfolgte die Messung des Zinngehaltes mit einem Palladium/Ascorbinsäure Modifier.

Biliäre Exkretion von Zinn :

Zum Zweck der Gewinnung von Gallenflüssigkeit führten wir bei einigen Versuchstieren eine mediane Laparotomie nach intraperitonealer Narkotisierung mit Phenobarbital durch. Anschließend suchten wir den Galle-Pankreasgang auf, eröffneten und kanülierten ihn mit einem Plastikschauch, über den wir die Galle nach außen in ein Auffanggefäß ableiteten.

10 min nach Auffangen der Ausgangsprobe an Galle erfolgte die Applikation von 6 mg/kg KG DBTC einmalig intravenös in die Schwanzvene. Das DBTC wurde zur Injektion zunächst in 2 Teilen 100% Ethanol gelöst und mit 3 Teilen Glycerol weiter verdünnt. Einige Ratten erhielten weitere 10 min später Natriumselenit in einer Dosierung von 5 mg/kg KG p.o., welches zur Applikation in 0,9% Natriumchlorid gelöst wurde.

Von den jeweils erhaltenen Lösungen verabreichten wir den Versuchstieren jeweils 0,2 ml/100g Körpergewicht

Die abgeleitete Gallenflüssigkeit fingen wir über einen Zeitraum von 4 h auf und verwendeten sie anschließend für die Bestimmung des in der Galle enthaltenen Zinngehaltes nach 1, 2, 3 sowie 4 h mittels AAS.

Zinnkonzentrationsbestimmung:

Aus der 1. Versuchsreihe wurden 4 h, 4 d, 7 d und am Versuchsende nach 4 Wochen Tiere getötet, um deren Gallenflüssigkeit, Urin sowie Pankreas, Leber und Thymus für die AAS zum Zwecke der Messung der enthaltenen Zinnmengen zu entnehmen.

2.2.3 Bestimmung pathobiochemischer Parameter im Serum:

Amylase und Lipase:

Zur Aktivitätsbestimmung dieser Enzyme im Serum der Tiere wurden die Test-Kits von Roche Diagnostics (Mannheim) unter Verwendung des Analysator EPOS 5060 (Eppendorf, Hamburg) genutzt.

Die Amylase ist nicht pankreasspezifisch und zeigt hohe Aktivitäten auch bei extrapancreatischen Erkrankungen, wie zum Beispiel Parotitis und Coma diabeticum. Dem gegenüber erhöht sich die Serumaktivität der Lipase ausschließlich bei Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse. Für beide gilt, dass ein Aktivitätsanstieg unter dem 3 fachen der oberen Norm nicht eindeutig eine Pankreatitis anzeigt.

Alkalische Phosphatase (AP) und Bilirubin:

Die Serumkonzentration von Bilirubin und Aktivität der Alkalischen Phosphatase wurde mit Hilfe des Analysator Hitachi 717 mit Test-Kits von Roche Diagnostics (Mannheim) gemessen.

Die AP kommt hauptsächlich in Gallengangsepithelien, Hepatozyten, Osteoblasten und Dünndarmmukosazellen vor. Ein Aktivitätsanstieg dieses Enzyms misst man bei Lebererkrankungen mit Cholestase und bei Knochenerkrankungen.

Eine Unterscheidung zwischen den Ätiologien der Enzymaktivitätselevationen gelingt durch Bestimmung der AP-Isoenzyme. Bilirubin ist zu 85% ein Abbauprodukt des Hämoglobins, das unter anderem in die Galle ausgeschieden wird. Im Fall einer hepatogenen oder cholestatischen Erkrankung tritt es in den Blutkreislauf über, wo dessen Konzentrationsanstieg gemessen werden kann.

Transaminasen:

Die Aktivität von Alaninaminotransferase (ALAT) und Aspartataminotransferase (ASAT) wurde mit Analyseplättchen von Vitros Chemistry bestimmt.

Die ALAT ist ein rein zytoplasmatisches Enzym der Hepatozyten und steigt bereits bei geringen Zellschädigungen an. Erhöhte Aktivitäten sind spezifisch für Erkrankungen der Leber, vor allem der Hepatitis.

Die ASAT ist ein zytoplasmatisches und mitochondriales Enzym, welches insbesondere in Herzmuskel, Leber, Hirn und in geringerem Maße im Magen, der Skelettmuskulatur, den Erythrozyten und den Nieren vorkommt. Ein Aktivitätsanstieg misst man bei schwereren Lebererkrankungen, Herzinfarkt und Skelettmuskelerkrankungen.

Malondialdehyd (MDA):

Malondialdehydsteigerungen wurden durch HPLC mit Hilfe von Reagenzienkits der Firma CROMSYSTEMS (München) gemessen.

Eine Konzentrationszunahme dieses membranständigen Aldehyds im Serum ist Ausdruck gesteigerter Lipidperoxidationsraten unterschiedlicher Genese, zum Beispiel durch freie Sauerstoffradikale, und damit ein Marker für oxidativen Stress.

Hyaluronsäure:

Die Hyaluronsäure ist ein Mucopolysaccharid in der Grundsubstanz des Bindegewebes. Erhöhungen von Hyaluronsäurekonzentrationen im Serum sind als Ausdruck gesteigerter Bindegewebsbildung zu sehen.

Die Analyse erfolgte durch Reagenzienkits der Firma CROMSYSTEMS.

2.2.4 Makroskopie:

Nach Tötung der Versuchstiere wurden Leber, Pankreas, Milz, Nieren und der Thymus zur morphologischen Betrachtung entnommen. In die Beurteilung flossen Größenänderung, Farbänderung und Veränderung der Festigkeit der Organe im Vergleich zu Kontrolltieren ein.

2.2.5 Histologie:

Je nach Versuchsanordnung entnahmen wir zu unterschiedlichen Zeitpunkten den Pankreaskopf mit eingebettetem Galle-Pankreasgang, den Pankreasschwanz, die Leber, die Milz, die Nieren und den Thymus. Die Organe wurden in 30%

Kalziumformalin fixiert und nach Entwässerung und Einbettung in Paraffin am Mikrotom geschnitten. Die so angefertigten Präparate durchliefen nach Färbung mit Hämatoxylin und Eosin die histologische Untersuchung am Lichtmikroskop.

2.3 Angewendete Substanzen:

- DBTC (Sigma, Aldrich) in einem Ethanol/Glycerol-Gemisch im Verhältnis 2:3
- Natrium-Selenit in 0,9% Natriumchlorid-Lösung
- Ethanol absolut, reinst zur Analyse
- Glycerol
- Natriumchlorid 0,9%
- Phenobarbital, Lösung in Aquadest

2.4 Verwendete Abkürzungen:

- AAS Atomabsorptionsspektrometrie
- ALAT Alaninaminotransferase
- AP Alkalische Phosphatase
- ASAT Aspartataminotransferase
- DBTC Di-n-butylzinndichlorid
- i.v. intravenös
- MDA Malondialdehyd
- mg/kg KG Dosierung bezogen auf 1 kg des Körpergewichtes des Versuchstieres
- n Zahl der Einzelwerte, Fallzahl
- p.o. per os
- s Standardabweichung
- $s_{\bar{x}}$ mittlerer Fehler des Mittelwertes
- U/l Maßeinheit der Enzymaktivität
- \bar{x} Mittelwert einer definierten Zahlenmenge
- µg/l Maßeinheit für Serumkonzentrationen
- µmol/l Maßeinheit für Serumkonzentrationen

2.5 Biologische Statistik:

Die arithmetischen Mittelwerte (\bar{x}) und die mittleren Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) aus den mit n angegebenen Zahlen der Einzelwerte wurden ermittelt.

Zum Vergleich der Mittelwerte von normal verteilten Daten mit ähnlichen Varianzen wurde der Student t-test verwendet. Im Falle von signifikanten Unterschieden bei den Varianzen wurden die Mittelwerte durch den Welch Test überprüft. Bei nicht normal verteilten Daten erfolgte die Evaluation durch den Wilcoxon Test. Ein Wert von $p < 0,05$ wurde als signifikanter Unterschied festgelegt.

3. Ergebnisse

3.1 Der Einfluss täglicher oraler therapeutischer Natriumselenit-Applikationen auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte (Versuchsreihe 1):

3.1.1 Wirkungen von DBTC (6 mg/kg KG) nach einmaliger intravenöser Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen (Versuchsgruppe 1)

Makroskopie

4 Tage nach Applikation von DBTC zeigten die Versuchstiere einen reduzierten Allgemeinzustand in Form von Gewichtsverlust und eingeschränkter Mobilität. Bei der Präparation der Organe imponierte ein Pankreaskopfödem, welches stärker ausgeprägt war als in der Cauda des Pankreas. Weiterhin zeigte sich der Galle-Pankreasgang dilatiert, vereinzelt mit intraluminalen Konkrementen. Die Leber erschien aufgehellt und von härterer Konsistenz. Bei der Begutachtung der Nieren konnten gelegentlich ikterische Veränderungen beobachtet werden, die Milz stellte sich ohne pathologischen Befund dar. Am entnommenen Thymus konnte eine diskrete Atrophie verzeichnet werden.

Nach **7 Tagen** ließen sich neben dem weiterhin bestehenden reduzierten Allgemeinzustand zunehmende morphologische Organschädigungen detektieren. Das Pankreaskopfödem zeigte sich progredient unter Einbeziehung der Cauda. Ebenfalls deutlich ausgeprägter imponierte die Galle-Pankreasgang-Dilatation bis maximal 6 mm (Normwert 0,4-0,6 mm) im Durchmesser mit höherer Anzahl an Konkrementen im Gangsystem (Abb. 2). Die Leber wies zusätzlich zur Konsistenzvermehrung und Aufhellung vereinzelt kleine Nekroseareale auf. Bei der Präparation der Nieren konnten neben einer grün-gelblichen Verfärbung gelegentlich perirenale Infiltrate vermerkt werden, die Milz erschien atrophisch. Eine zunehmende Atrophie, im Vergleich zur Organentnahme am 4. Tag nach DBTC-Applikation, konnte am Thymus festgestellt werden.



Abb. 2: Hepar mit dilatiertem Galle-Pankreasgang und Pankreaskopfüdem 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.)

Im Vordergrund der morphologischen Veränderungen nach **14 Tagen** steht der extrem dilatierte Galle-Pankreasgang, welcher im Maximum einen Durchmesser von 10 mm aufwies. Intraluminal konnten mehrere Konkremente detektiert werden. Es zeigte sich ein Pankreaskopf- bzw. Pankreasschwanzödem, wobei sich gleichfalls eine beginnende Fibrosierung im Caput manifestierte. Die Leber imponierte verhärtet mit Nekrosearealen, die Nieren grün-gelblich verfärbt und vereinzelt atrophisch. Sowohl an Milz als auch am Thymus ließ sich eine Atrophie erkennen, die aber geringer als zu den vorherigen Präparationszeitpunkten imponierte.

28 Tage nach intravenöser DBTC-Applikation zeigten die Versuchstiere einen stark verminderten Allgemeinzustand mit Kachexie und Apathie. Am Pankreas präsentierten sich neben ödematösen Veränderungen im Caput und Corpus sowie der Cauda eine ausgedehnte Fibrose um den Pankreasgang. Der Galle-Pankreasgang stellte sich massiv dilatiert dar, als Maximum konnte ein Durchmesser von 16 mm gemessen werden. Die Leber wies neben einer festen Konsistenz Zeichen eines beginnenden zirrhotischen Umbaus auf. An den Nieren stellten sich neben einer Atrophie perirenal Infiltrate dar. Milz und Thymus zeigten keinen pathologischen Befund.

Mikroskopie

Bereits **4 Tage** nach Applikation von DBTC ließ sich lichtmikroskopisch ein beginnendes Pankreaskopfödem, vor allem periductal, nachweisen. Weiterhin herrschten Entzündungszellinfiltrate, vorwiegend bestehend aus neutrophilen Granulozyten, vor. Vereinzelt waren Azinuszellschäden (Vakuolisierung, Nekrosen) detektierbar. Der Galle-Pankreasgang wies Dilatationen mit einzelnen Epithelnekrosen auf. Intrahepatisch manifestierten sich die mikroskopischen Veränderungen vorwiegend am Gallengangssystem. Es ließen sich Proliferationen des Epithels festhalten, verursacht durch eine intraluminale Cholestase. In Nieren, Milz und Thymus stellten sich bis auf beginnende Zellhypoplasien keine Auffälligkeiten dar.

7 Tage nach Induktion einer Pankreatitis durch Applikation von DBTC boten sich histologisch im Pankreas ein periductales Ödem und eine interstitielle Pankreatitis mit Entzündungszellinfiltraten bestehend aus Granulozyten, Histozyten, Lymphozyten, Makrophagen und Plasmazellen (Abb. 3). Auch in der mikroskopischen Betrachtung der Leber waren Entzündungszellinfiltrate, vor allem im Bereich der Portalfelder detektierbar. Der Galle-Pankreasgang zeigte eine extreme Dilatation sowie eine teilweise Nekrose von Epithelzellen, welche zu Adhäsionen und Obstruktionen des Gangsystemes mit nachfolgender Cholestase führt. In Nieren, Milz und Thymus imponierten vor allem Zellhypoplasien ohne relevante Entzündungszellinfiltrationen.

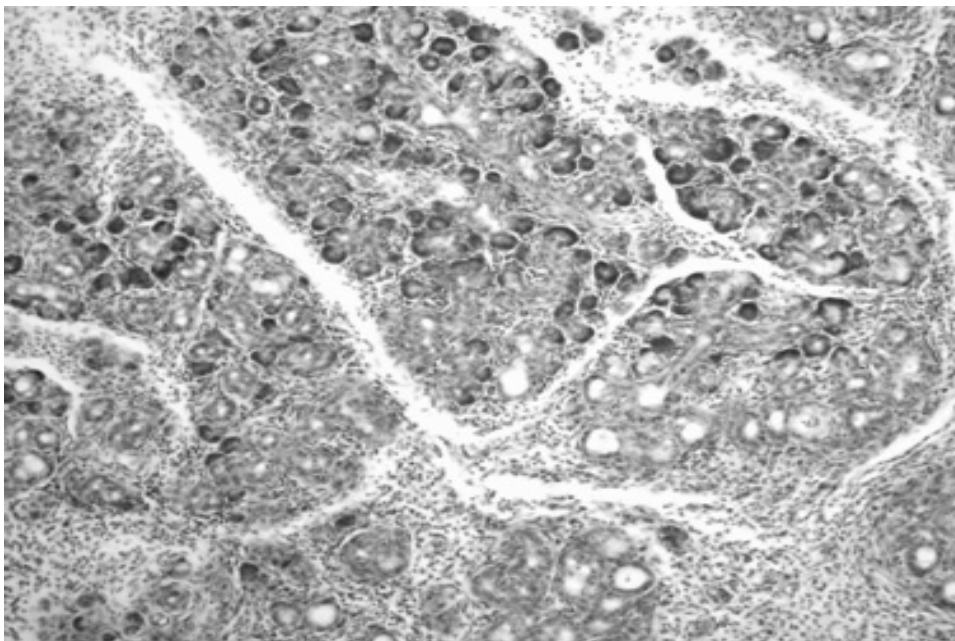


Abb. 3: Akute interstitielle Pankreatitis an der Ratte 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.). HE x 26

Nach **14 Tagen** konnten bevorzugt im Pankreaskopf neben ödematösen Veränderungen beginnende Fibrosierungen nachgewiesen werden. Neben der Dilatation des Galle-Pankreasganges fanden sich nun neben den zuvor beschriebenen Entzündungszellinfiltraten zunehmend Fibroblasten. Intrahepatisch dominierte die Hyperplasie des Gallengangsystems in den Portalfeldern sowie von dort ausgehende Nekrosezonen. Milz und Nieren imponierten durch zahlreiche Zellhypoplasien atroph, die Hypoplasien im Bereich des Thymus zeigten sich regredient.

Zusätzlich zu den zuvor genannten mikroskopischen Befunden zeigten sich nach **28 Tagen** ausgedehnte Fibrosezonen periductal und interstitiell, bevorzugt im Caput des Pankreas (Abb. 4).

Die extreme Dilatation des Galle-Pankreasganges persistierte, nekrotisches Zellmaterial, ausgehend vom Oberflächenepithel, fand sich im Gangsystem. Begleitend stellten sich partielle Regenerationen in Form von fokalen Zellhyperplasien ein. In der Leber waren neben Entzündungszellinfiltraten und Gallengangshyperplasien auch komplette Nekroseareale zu erkennen (Abb. 5). Am Thymus fanden sich keine pathologischen Veränderungen (Abb. 6), Milz und Nieren wiesen geringe strukturelle Schäden durch kleine Nekroseareale auf.

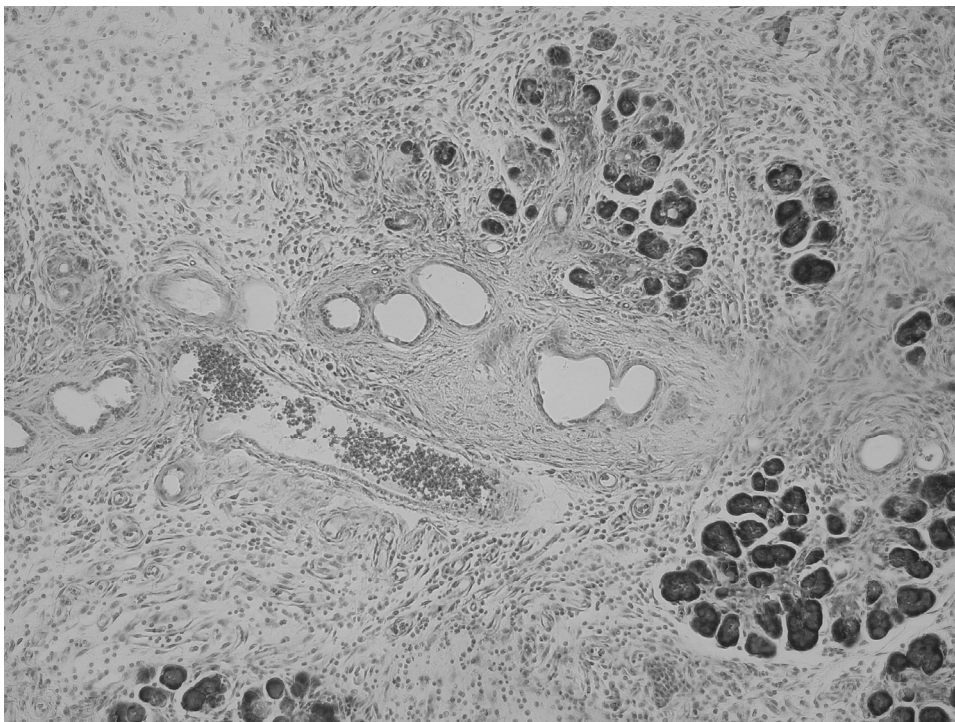


Abb. 4: Pankreas 28 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.). HE x 26

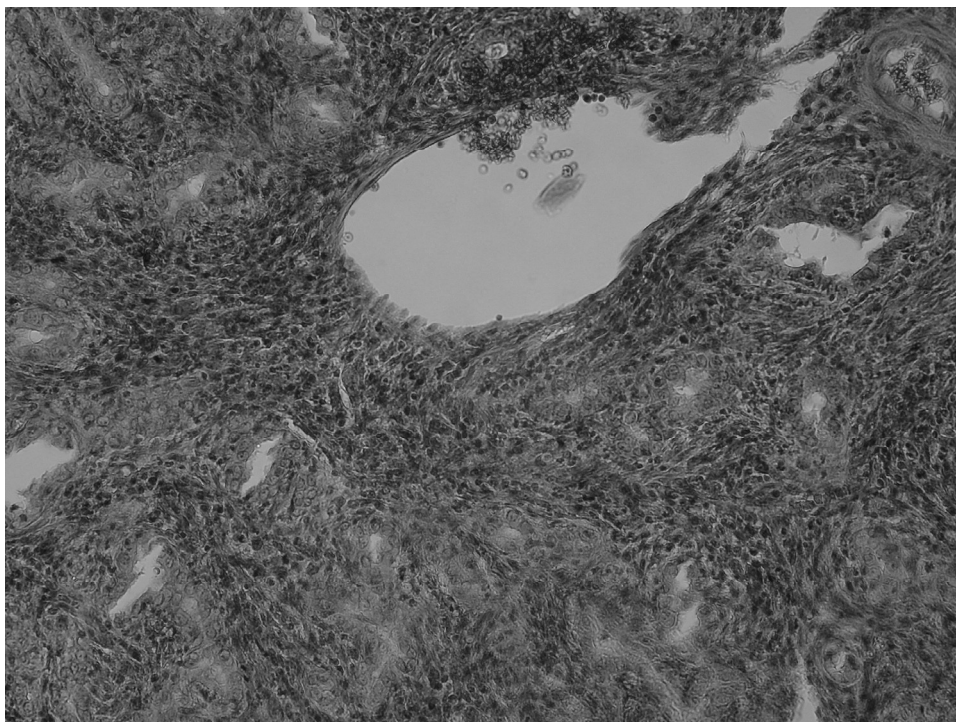


Abb. 5: Hepar 28 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.). HE x 26

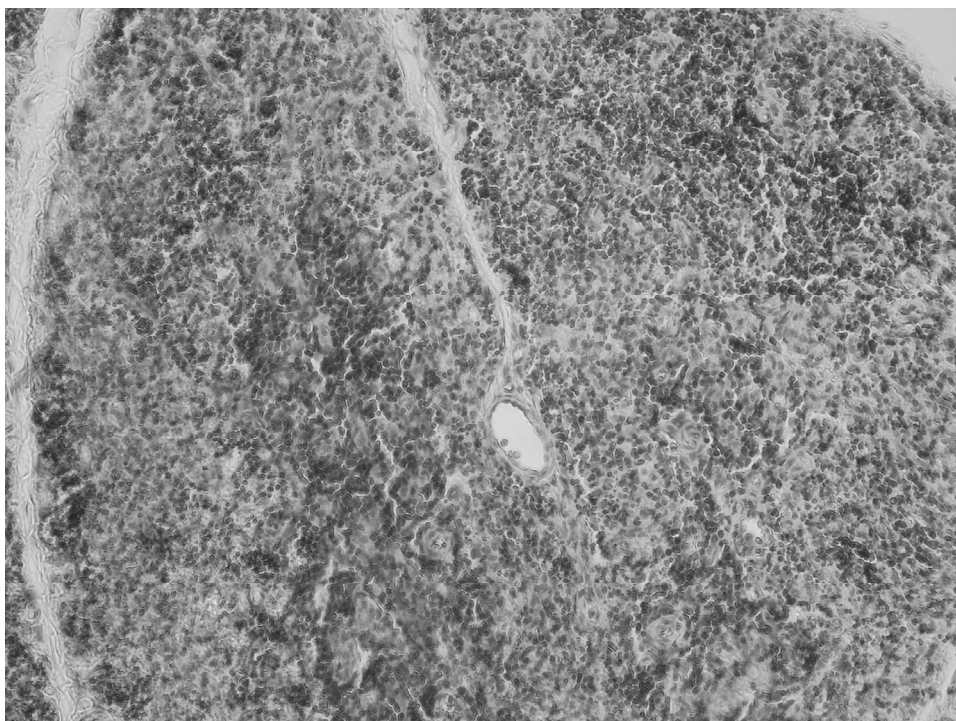


Abb. 6: Thymus 28 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.). HE x 26

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 1–8, 3.1.5: Diagramm 1–8)

Die Aktivität der Amylase im Serum steigt 2 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) an und erreicht zu diesem Zeitpunkt ihr Maximum. Elevationen der Lipase konnten ebenfalls bereits am 2. Tag nach DBTC-Gabe verzeichnet werden, das Maximum lag am 7.Tag, dann stellten sich bis zum Versuchsende geringe Erhöhungen der Aktivität dar.

Die Alkalische Phosphatase und Bilirubin zeigten in den durchgeführten Messungen einen Aktivitätspeak bzw. Konzentrationssteigerungen 7 Tage nach DBTC-Applikation. Im weiteren Versuchsverlauf verliefen die Parameter regredient.

Bei Betrachtung der Transaminasen ließ sich ein Aktivitätsmaximum nach 4 Tagen bei der ASAT und nach 28 Tagen bei der ALAT nachweisen.

Die höchste Serumkonzentration von Malondialdehyd konnte bereits 2 Stunden nach Verabreichung von DBTC detektiert werden. In den nachfolgenden Messungen sank die Konzentration im Serum kontinuierlich auf Normwerte.

Die Messwerte der Hyaluronsäure zeigten eine progrediente Konzentrationssteigerung während der gesamten Versuchsdauer mit einem Maximum nach 28 Tagen.

3.1.2 Wirkungen von Natriumselenit bei täglicher oraler Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen (Versuchsgruppe 2)

3.1.2.1 Natriumselenit 0,3 mg/kg KG täglich p.o. im Zeitraum von 28 Tagen

Makroskopie

Bei den untersuchten Versuchstieren ließen sich bei der Präparation keine pathologischen Organveränderungen feststellen (Abb. 7).

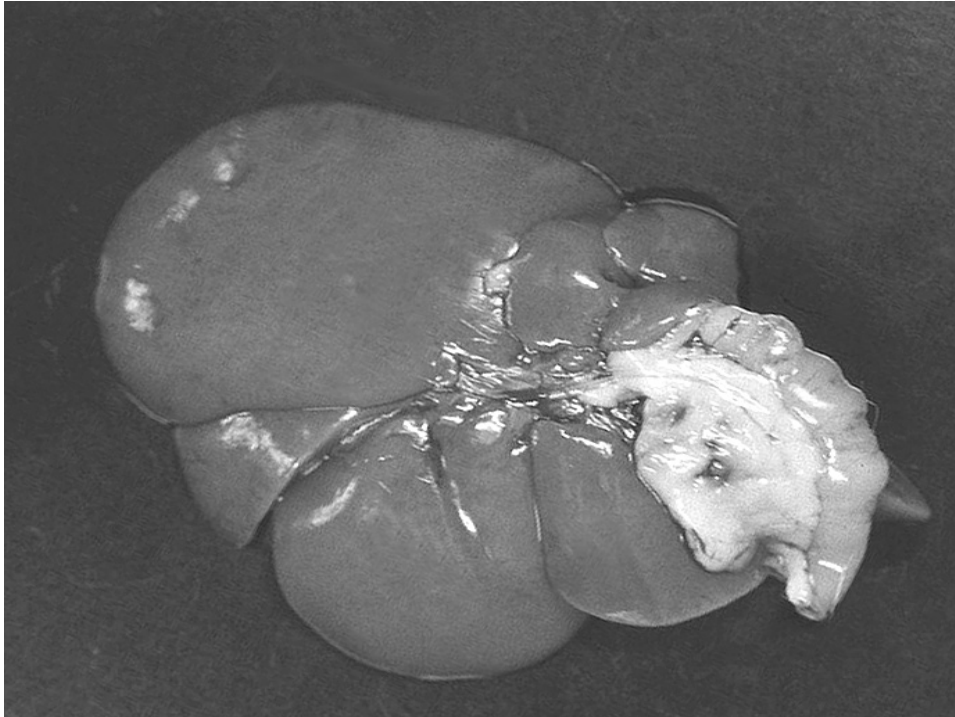


Abb. 7: Hepar mit Galle-Pankreasgang ohne pathologischen Befund 7 Tage nach Applikation von Natriumselenit (0,3 mg/kg KG p.o.)

Mikroskopie

In der lichtmikroskopischen Betrachtung der entnommenen Organe konnten keine Pathologien detektiert werden.

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 1–8, 3.1.5: Diagramm 1–8)

Die Amylaseaktivität zeigte ein ähnlich hohes Niveau wie die Messungen in der Versuchsgruppe 1. Keine Auslenkungen wies die Lipase auf.

Bei Betrachtung der Messwerte der Alkalischen Phosphatase imponierten deutlich erhöhte Enzymaktivitäten mit einem Maximum nach 4 Tagen. Die Bilirubin- und Hyaluronsäurekonzentrationen sowie die Serumaktivität der Transaminasen stellten sich normwertig dar.

3.1.2.2 Natriumselenit 1,0 mg/kg KG täglich p.o. im Zeitraum von 28 Tagen

Makroskopie

Es stellten sich makroskopisch keine pathologischen Organveränderungen dar.

Mikroskopie

Keine Organe wiesen histologisch Pathologien auf.

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 1–8, 3.1.5: Diagramm 1–8)

Die Serumkonzentrationen der Amylase waren vergleichbar den gemessenen Enzymaktivitäten in der Versuchsgruppe 1. Die Lipaseaktivität stellte sich ohne Auslenkungen dar. Bei der Bestimmung der Alkalischen Phosphatase waren gesteigerte Enzymaktivitäten, mit einem Maximum nach 4 Tagen, objektivierbar. Normwertig wurden Bilirubin, ASAT, ALAT und die Hyaluronsäure gemessen.

3.1.2.3 Natriumselenit 5,0 mg/kg KG täglich p.o. im Zeitraum von 28 Tagen

Makroskopie

Bei der Präparation und Begutachtung der Organe zeigten sich keine pathomorphologischen Veränderungen.

Mikroskopie

Histologisch stellten sich die entnommenen Organe ohne pathologische Auffälligkeiten dar (Abb. 8–10).

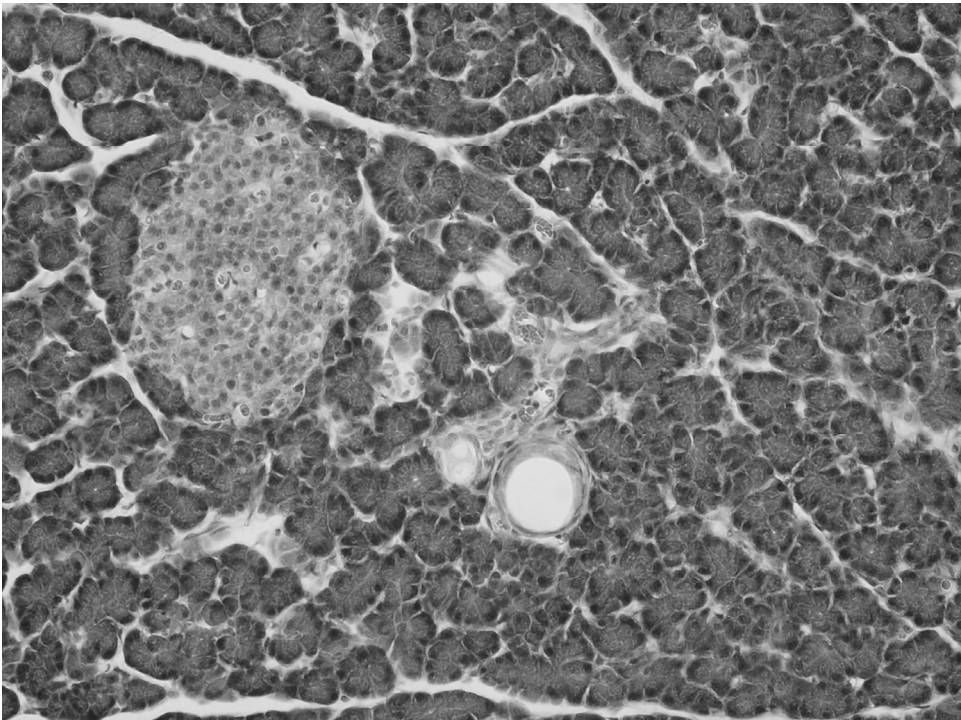


Abb. 8: Pankreas 28 Tage nach Applikation von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.). HE x 26

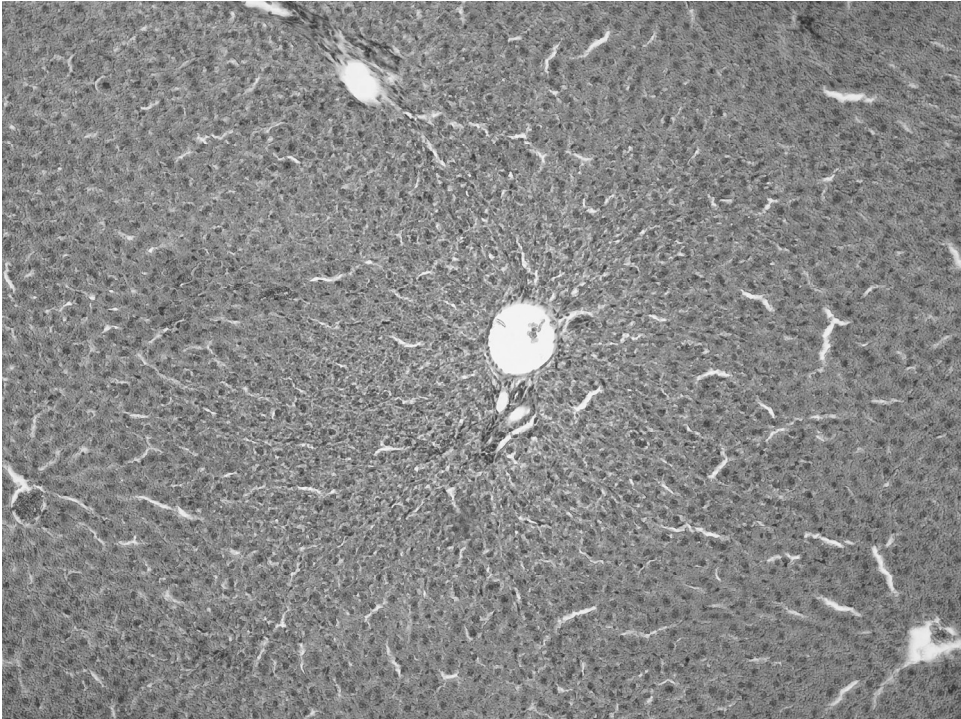


Abb. 9: Hepar 28 Tage nach Applikation von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.). HE x 26

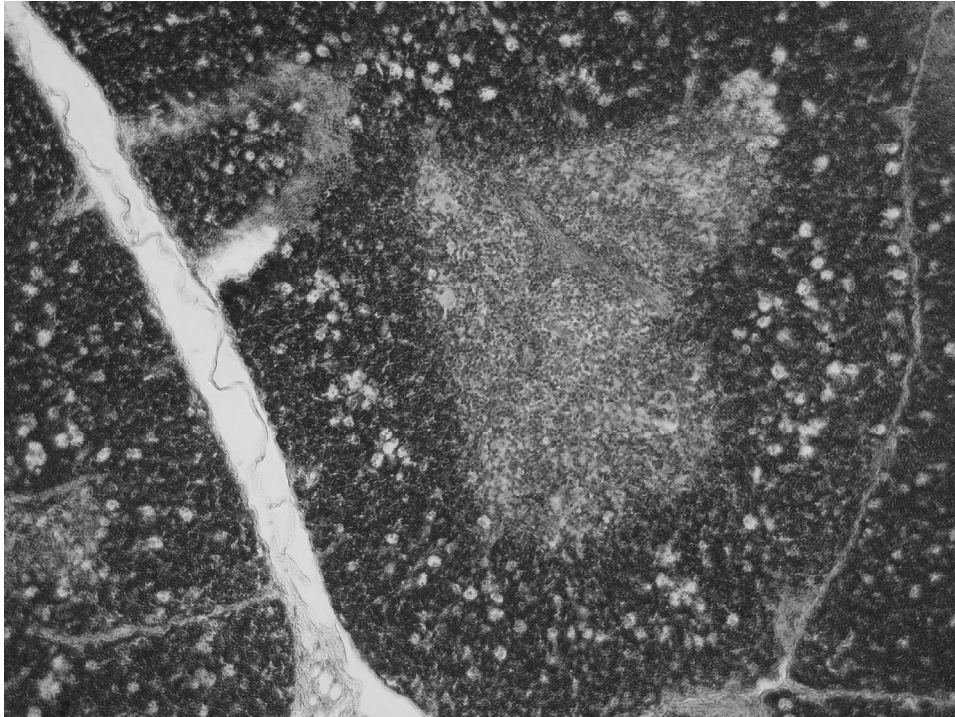


Abb. 10: Thymus 28 Tage nach Applikation von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.). HE x 26

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 1–8, 3.1.5: Diagramm 1–8)

Die Aktivitäten der Amylase bewegten sich auf ähnlich hohem Niveau wie in der Versuchsgruppe 1. Keine Auslenkungen der Enzymaktivität wiesen sowohl die Lipase als auch Transaminasen und die AP auf. Die Messwerte von Malondialdehyd und Bilirubin entsprachen zu allen Zeitpunkten normwertigen Konzentrationen im Serum.

3.1.3 Wirkungen von Natriumselenit bei täglicher oraler therapeutischer Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen nach einmaliger intravenöser Applikation von DBTC (6 mg/kg KG) (Versuchsgruppe 3)

3.1.3.1 DBTC + Natriumselenit 0,3 mg/kg KG täglich p.o. im Zeitraum von 28 Tagen

Makroskopie

4 Tage nach einmaliger DBTC-Applikation stellte sich makroskopisch ein deutliches

Pankreaskopffödem dar, welches jedoch geringer ausgeprägt schien im Vergleich zur alleinigen Gabe von DBTC in Versuchsgruppe 1. Am Galle-Pankreasgang konnte ebenso wie in Versuchsgruppe 1 eine Dilatation detektiert werden, allerdings mit vermindertem Durchmesser. Die pathomorphologischen Veränderungen an Leber, Milz, Nieren und Thymus entsprechen denen der Versuchsgruppe 1 nach 4 Tagen.

Bereits **7 Tage** nach Applikation von DBTC konnten an den entnommenen Organen weniger stark ausgeprägte pathomorphologische Befunde erhoben werden.

Ein Pankreaskopffödem ließ sich periductal nachweisen, Corpus und Cauda waren makroskopisch unauffällig. Die Leber zeigte sich geringfügig konsistenzvermehrt, der Galle-Pankreasgang stellte sich dilatiert mit einzelnen Konkrementen dar. An Thymus, Nieren und Milz kamen Atrophiezeichen in Form von Zellhypoplasien zur Darstellung, jedoch in geringerem Umfang als in Versuchsgruppe 1.

14 und 28 Tage nach Verabreichung von DBTC konnten an allen Organen nur noch marginale Pathologien detektiert werden. Vordergründig waren ein Pankreaskopffödem periductal sowie fokale Fibrosezonen interstitiell. Das bilio-pankreatische Gangsystem wurde bis zum Versuchsende dilatiert gemessen, aber von geringerem Durchmesser als in der zum Vergleich herangezogenen Versuchsgruppe 1. Milz, Thymus und Nieren zeigten keine Pathologien.

Mikroskopie

Histologisch ließen sich **4 und 7 Tage** nach einmaliger Verabreichung von DBTC und täglichen Natriumselenit-Applikationen am Pankreaskopf interstitielle Ödeme eruieren sowie eine Migration von Entzündungszellen, vor allem Granulozyten (Abb. 11). Im Vergleich zur Versuchsgruppe 1 stellten sich diese aber weniger ausgeprägt dar. Das Galle-Pankreasgangsystem wies einzelne Nekrosen des Oberflächenepithels auf und zeigte sich dilatiert, aber auch hierbei in geringerem Ausmaß als in Versuchsgruppe 1. Intrahepatisch herrschten neben Gallengangshyperplasien Entzündungszellinfiltrationen bevorzugt periportal vor (Abb. 12). An Milz und Nieren, aber vor allem am Thymus ließen sich hypoplastische Zellen als Zeichen einer beginnenden Atrophie nachweisen, deren Ausprägung weniger stark war im Vergleich zur Versuchsgruppe 1 (Abb. 13).

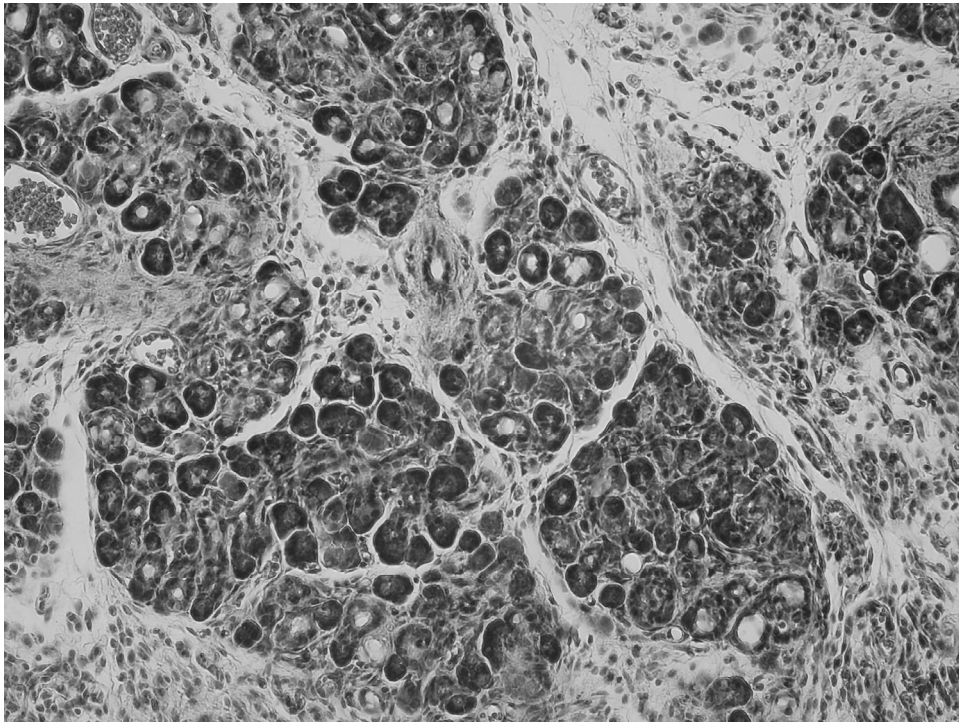


Abb. 11: Pankreas 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) + Natriumselenit (0,3 mg/kg KG p.o.). HE x 26

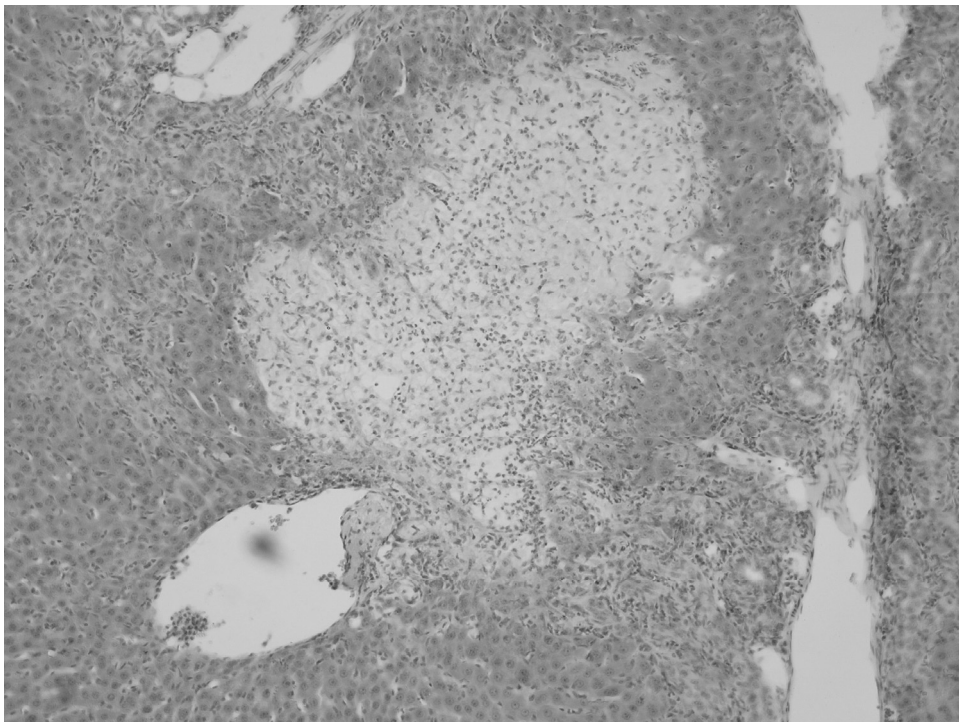


Abb. 12: Hepar 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) + Natriumselenit (0,3 mg/kg KG p.o.). HE x 26

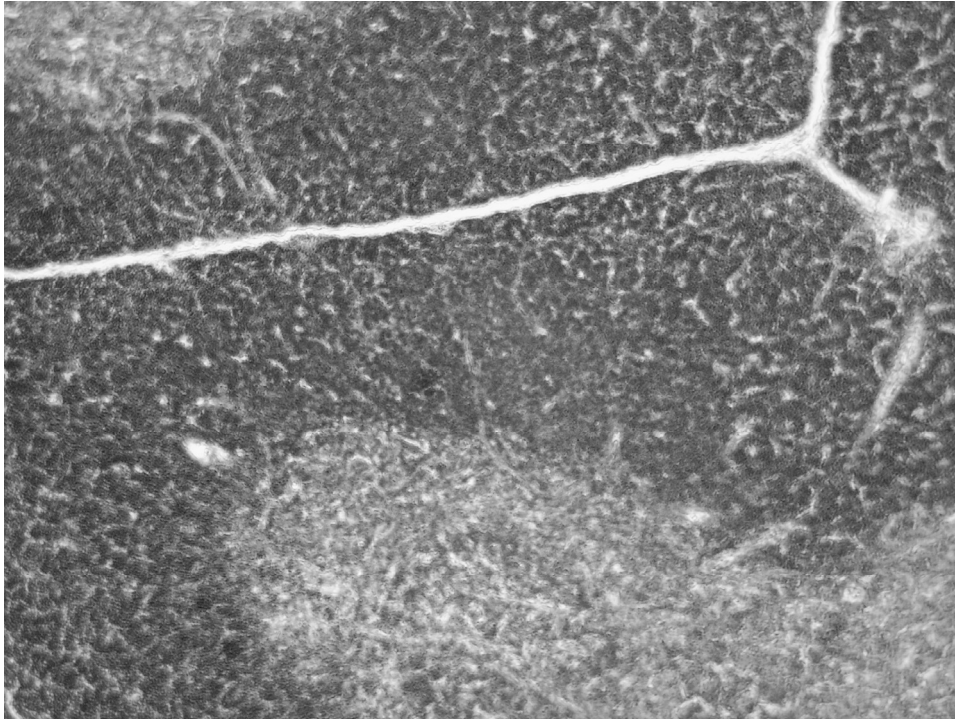


Abb. 13: Thymus 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) + Natriumselenit (0,3 mg/kg KG p.o.). HE x 26

Nach **14 Tagen** konnte lichtmikroskopisch im Vergleich zur Versuchsgruppe 1 ein geringer ausgeprägtes, aber deutlich erkennbares periductales Pankreaskopfüdem detektiert werden. Weitere pathomorphologische Veränderungen waren die Entzündungszellinfiltrationen sowie einzelne Vakuolisierungen und Fibrosierungen. Das Galle-Pankreasgangsystem war dilatiert und wies Debris als Korrelat untergegangener Epithelzellen auf. In der Leber stellten sich bevorzugt im Periportalfeld gestaute Gallengänge mit von dort ausgehenden Nekrosen dar. Die Nieren und Milz ließen Hypoplasien erkennen, im Thymus waren diese kaum detektierbar.

Zum Ende des Versuches nach **28 Tagen** ließen sich im Bereich des Pankreaskopfes ödematöse Veränderungen nachweisen, begleitet von ausgedehnten Fibrosezonen, die sich vom Ductus pancreaticus intrapankreatisch ausbreiteten. Das Galle-Pankreasgangsystem zeigte, wie auch zu den anderen Untersuchungszeitpunkten, teilweise extreme Dilatationen mit Nekrosematerial intraluminal. Intrahepatisch konnten sowohl Gallengangshyperplasien als auch beginnende zirrhotische Umbauvorgänge detektiert werden. In der Milz als auch in den Nieren kamen hypoplastische Zellverbände zur Darstellung, der Thymus blieb ohne pathologischen Befund.

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 1–8, 3.1.5: Diagramm 1–8)

Die gemessenen Amylaseaktivitäten zeigten zu keinem Zeitpunkt signifikante Ausschläge gegenüber der Versuchsgruppe 1, sie präsentierten sich auf ähnlich hohem Aktivitätsniveau. Die Lipase zeigte tendenziell geringere Aktivitäten als in der Versuchsgruppe 1, nach 28 Tagen konnte eine signifikante Senkung verzeichnet werden.

Gegenüber den Versuchstieren, die allein mit Natriumselenit behandelt wurden (Versuchsgruppe 2), zeigten sich über die gesamte Versuchsdauer erhöhte Enzymaktivitäten.

Die Messwerte der AP erbrachten durchgehend erhöhte Serumspiegel, welche zumeist deutlich über denen der Versuchsgruppe 1+2 lagen. Die Bilirubinserumkonzentrationen konnten in Kombination mit Natriumselenit signifikant nach 4, 14 und 28 Tagen gesenkt werden im Vergleich zu allein mit DBTC behandelten Tieren. Gegenüber den Tieren der Versuchsgruppe 2 stellten sich erhöhte Messwerte dar. Die Transaminasen konnten ebenfalls signifikant im Vergleich zur Versuchsgruppe 1 gesenkt werden, die ASAT nach 4, 7 und 14 Tagen, die ALAT nach 7, 14 und 28 Tagen. Auch hier lagen die Enzymaktivitäten jedoch weit über denen der Versuchsgruppe 2.

Bei Messung der Hyaluronsäure konnten zu allen Zeitpunkten (7, 14 und 28 Tage) signifikante Konzentrationssenkungen im Vergleich zur Versuchsgruppe 1 nachgewiesen werden.

3.1.3.2 DBTC + Natriumselenit 1,0 mg/kg KG täglich p.o. im Zeitraum von 28 Tagen

Makroskopie

4 und 7 Tage nach Applikation von DBTC und täglichen oralen Natriumselenit-Gaben ließen sich makroskopisch im Vergleich zur Versuchsgruppe 1 nur noch geringe morphologische Pathologien nachweisen. Das Caput pancreatis zeigte ein marginales periductales Ödem, Corpus und Cauda stellten sich ohne Läsionen dar. Das Galle-Pankreasgangsystem wies eine maximale Dilatation von 6 mm auf. Die Leber erschien

diskret konsistenzvermehrt und aufgehellte. An Milz, Nieren und Thymus konnten makroskopisch keine Pathologien festgestellt werden.

Im Zeitraum von **14 bis 28 Tagen** ließen sich am Pankreaskopf diskrete ödematöse Veränderungen nachweisen, Fibrosierungen waren nicht detektierbar.

Das bilio-pankreatische Gangsystem wies Dilatationen auf, welche maximal 6 mm im Durchmesser betrugen. Die Leber zeigte eine minimale Verfestigung auf, Milz, Nieren und Thymus stellten sich unauffällig dar.

Mikroskopie

4 Tage nach einmaliger DBTC-Applikation und täglichen Natriumselenit-Gaben zeigte sich histologisch eine milde interstitielle Pankreatitis im Caput pancreatis, welche deutlich schwächer ausgeprägt war als im Vergleich zur Versuchsgruppe 1. Auch die Entzündungszellinfiltrationen imponierten deutlich geringer, allenfalls periductal. Der Ductus choledochus und pancreaticus stellten sich erweitert dar, Nekrosen waren nicht objektivierbar. Intrahepatisch zeigte sich im Periportalfeld eine Ganghyperplasie, in Milz, Nieren und Thymus manifestierten sich vereinzelte marginale Hypoplasien.

Nach **7 Tagen** ließ sich histologisch kein signifikanter Unterschied bei der Betrachtung der Organveränderungen gegenüber dem Zeitpunkt von 4 Tagen nach DBTC-Applikation vermerken.

Im Zeitraum von **14 bis 28 Tagen** zeigten sich die Entzündungszellen im Bereich des Pankreaskopfes ebenso wie das interstitielle Ödem regredient, am 28. Tag stellte sich histologisch ein Pankreas ohne pathologischen Befund im Caput und Corpus sowie in der Cauda pancreatis dar. Die am 14. Tag noch marginal detektierbare Galle-Pankreasgang-Dilatation war zum Versuchsende noch diskret nachweisbar. Intrahepatisch ergaben sich lichtmikroskopisch keine Veränderungen. Auch an Milz, Nieren und Thymus ließen sich keine Pathologien feststellen.

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 1–8, 3.1.5: Diagramm 1–8)

Die Serumaktivitäten der Amylase und Alkalischen Phosphatase wurden durch die Applikation von Natriumselenit nicht signifikant gesenkt. Sie sind vergleichbar mit den Aktivitäten der allein mit Natriumselenit behandelten Tiere (Versuchsgruppe 2).

Die Amylaseaktivität unterschied sich auch nicht von denen der Versuchsgruppe 1, die AP-Konzentrationen stellten sich sogar im Vergleich erhöht dar.

Die gemessene Lipaseaktivität stieg vergleichbar mit den Tieren der Versuchsgruppe 1 bis zum 2. Tag an, zeigte dann eine tendenzielle Abnahme bei 7 und 14 Tagen und wurde signifikant am 28.Tag gesenkt. Die Bilirubinkonzentrationen waren ebenfalls am 4. Tag tendenziell niedriger im Vergleich zu mit DBTC allein behandelten Versuchstieren. Am 7., 14. und 28.Tag konnten sie als signifikant erniedrigt gemessen werden. Bezüglich der Transaminasenaktivität zeigte die ASAT zu jedem Untersuchungszeitpunkt signifikant gesenkte Messwerte im Vergleich zur Versuchsgruppe 1, die ALAT, bis auf Tag 4, ebenfalls über den gesamten Versuchszeitraum. Auch die Serumspiegel der Hyaluronsäure wurden zu allen Zeitpunkten signifikant erniedrigt gemessen.

3.1.3.3 DBTC + Natriumselenit 5,0 mg/kg KG täglich p.o. im Zeitraum von 28 Tagen

Makroskopie

4 und 7 Tage nach einmaliger intravenöser DBTC-Applikation und anschließenden täglichen oralen Natriumselenit-Gaben konnten am entnommenen Pankreas makroskopisch, bis auf ein marginales Pankreaskopfödem, in Corpus und Cauda pancreatis keine pathologische Veränderungen detektiert werden. Das Galle-Pankreasgangsystem zeigte eine minimale Gangdilatation von maximal 4 mm im Durchmesser. Die übrigen präparierten Organe (Leber, Thymus, Milz und Nieren) erschienen morphologisch ohne Auffälligkeiten (Abb. 14).

14 Tage nach Versuchsbeginn stellten sich alle den Tieren entfernte Organe ohne morphologische Läsionen dar.

Auch **28 Tage** nach Versuchsbeginn manifestierten sich keine Pathomorphologien an den präparierten Organen der Versuchstiere.

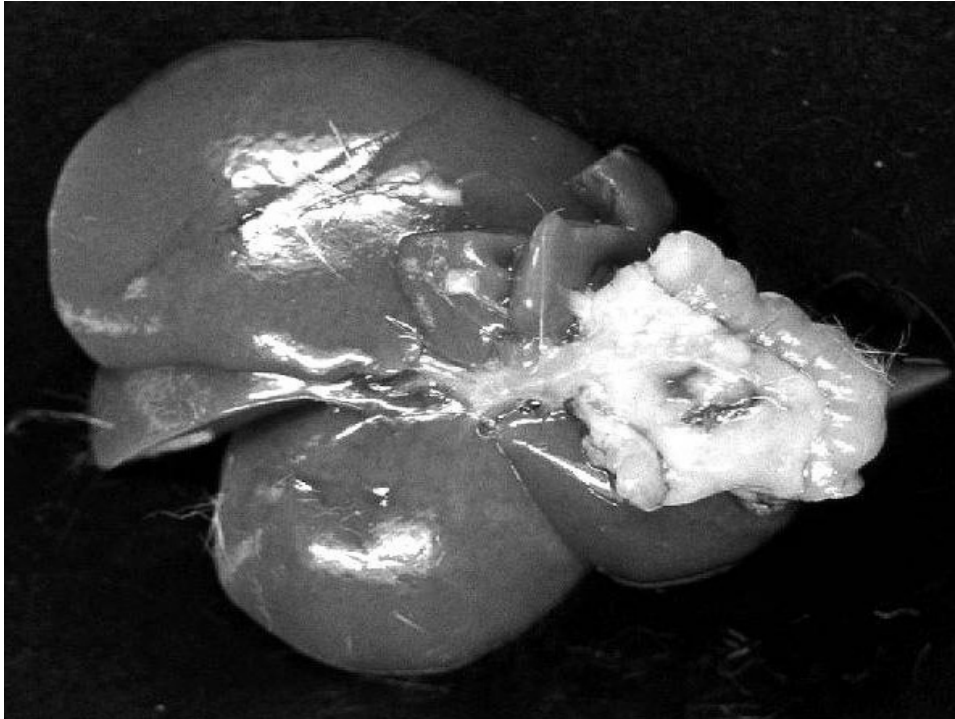


Abb. 14: Hepar mit minimal dilatiertem Galle-Pankreasgang und Pankreaskopfüdem 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) + Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.)

Mikroskopie

4 und 7 Tage nach DBTC-Gabe konnte im Pankreaskopf ein geringes, um den Ductus pancreaticus gelegenes, interstitielles Ödem objektiviert werden. Geringe Entzündungszellakkumulationen waren ebenfalls nachweisbar. Die angeschnittenen Gallengänge erschienen marginal hyperplastisch, intraluminale Nekrosen stellten sich nicht dar. Auch in der Leber zeigte sich als pathologisches Korrelat einzig eine Ganghyperplasie im Periportalfeld. Diskrete hypoplastische Zellverbände manifestierten sich vor allem im Thymus, aber auch weitaus diskreter in Nieren und Milz.

Im weiteren Versuchsablauf konnten nach **14 und 28 Tagen** an allen Organen normale Parenchymstrukturen ohne pathologische Veränderungen vermerkt werden (Abb. 15–17).

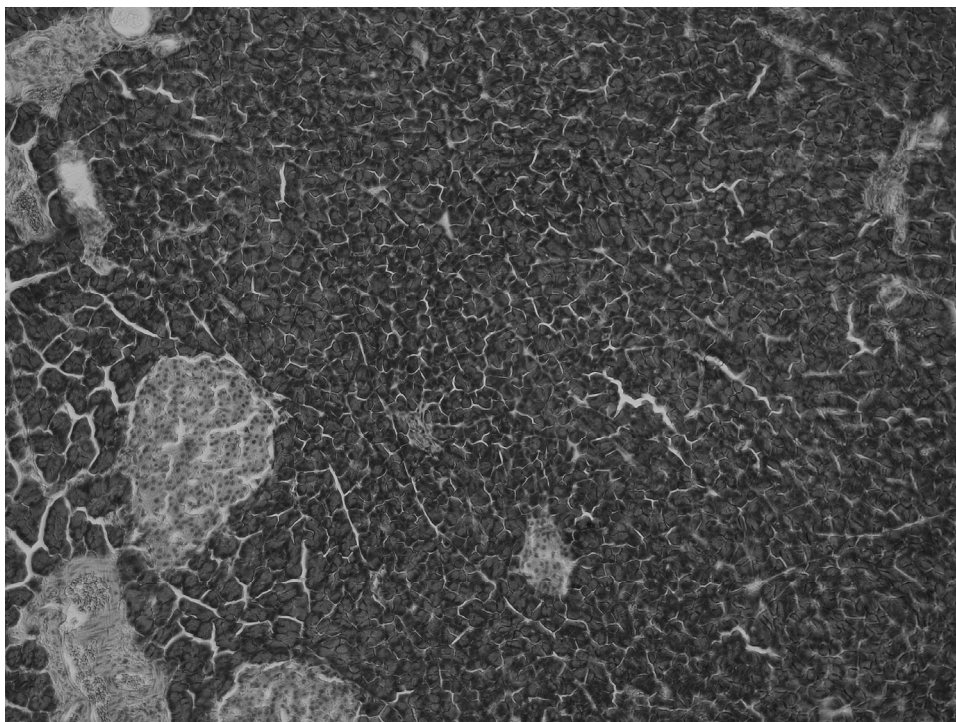


Abb. 15: Pankreas 28 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) + Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.). HE x 26

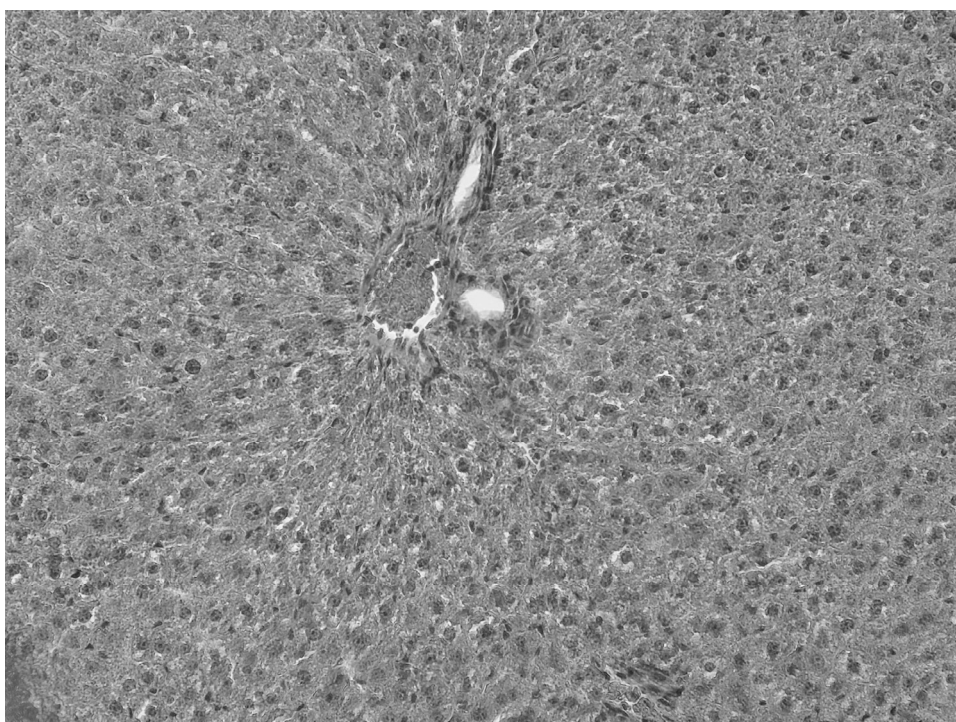


Abb. 16: Hepar 28 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) + Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.). HE x 26

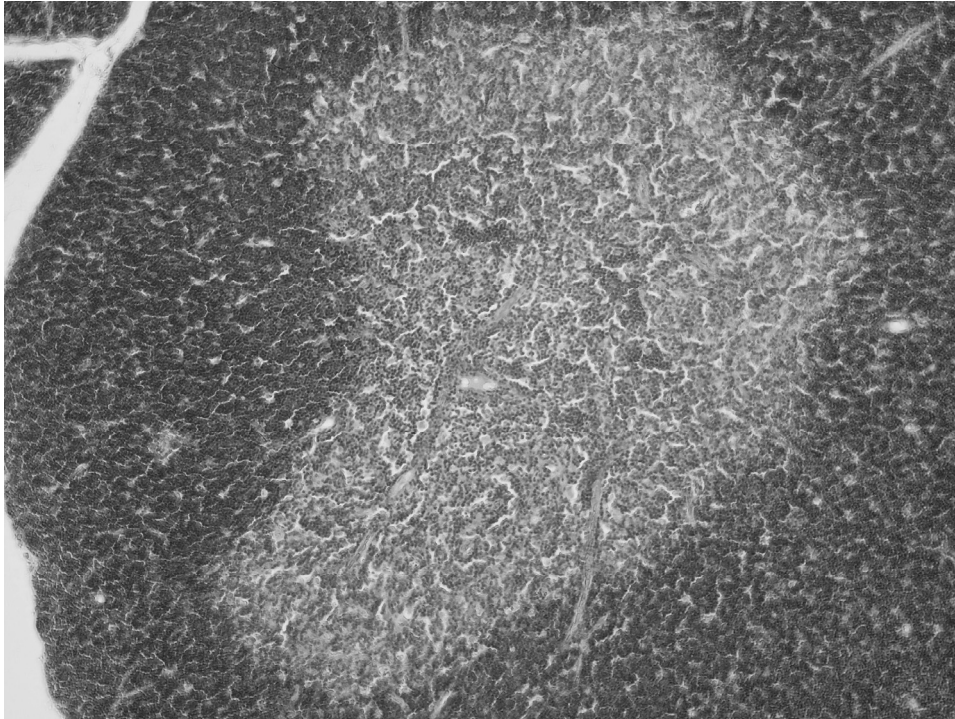


Abb. 17: Thymus 28 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) + Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.). HE x 26

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 1–8, 3.1.5: Diagramm 1–8)

Die toxischen Wirkungen des DBTC, und damit die Schwere der Pankreatitis, werden durch Natriumselenit signifikant verringert, ersichtlich an signifikanten Aktivitätsreduktionen der Lipase 2, 7, 14 und 28 Tage nach DBTC-Gabe im Vergleich zur Versuchsgruppe 1. Auch die Aktivität der AP zeigte sich 7, 14 und 28 Tage nach Versuchsbeginn signifikant erniedrigt. Bei Betrachtung der Messergebnisse von Bilirubin, ASAT und ALAT lassen sich ebenfalls zu allen Zeitpunkten im Verlauf des Versuches signifikante Aktivitätssenkungen im Vergleich zu allein mit DBTC behandelten Tieren der Versuchsgruppe 1 nachweisen.

In Auswertung der Serumkonzentrationen des Malondialdehyd stellten sich 2 h und 4 h nach DBTC-Applikation signifikant gesenkte Messwerte dar, verglichen mit den MDA-Serumkonzentrationen der Versuchsgruppe 1. Nach 6 und 24 h konnten diese Werte auf gleichem Niveau wie in der Versuchsgruppe 1 gefunden werden. Die Serumamylaseaktivität stellte sich in den ersten 14 Tagen nach DBTC-Applikation deutlich erhöht gegenüber der Versuchsgruppe 1 dar. Zum Versuchsende am 28.Tag waren dann tendenziell niedrigere Werte messbar.

3.1.4 Wirkungen von Ethanol/Glycerol bei einmaliger intravenöser Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen (Versuchsgruppe 4)

Makroskopie

Die den Versuchstieren entnommenen Organe wiesen keine pathologischen Befunde auf.

Mikroskopie

In den histologischen Aufarbeitungen der präparierten Organe stellten sich keine Auffälligkeiten dar.

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 1–7, 3.1.5: Diagramm 1–7)

Die durch uns gemessenen Enzymaktivitäten der Amylase, Lipase, Alkalische Phosphatase, ASAT und ALAT sowie die Serumkonzentrationen von Bilirubin und MDA zeigten über den gesamten Versuchszeitraum keine pathologischen Elevationen. Die Serumspiegel beziehungsweise Enzymaktivitäten entsprachen denen der Natriumselenit-Gruppen und wurden im Vergleich zur DBTC-Gruppe deutlich erniedrigt gemessen.

3.1.5 Grafische Gegenüberstellung der Ergebnisse aus Versuchsreihe 1

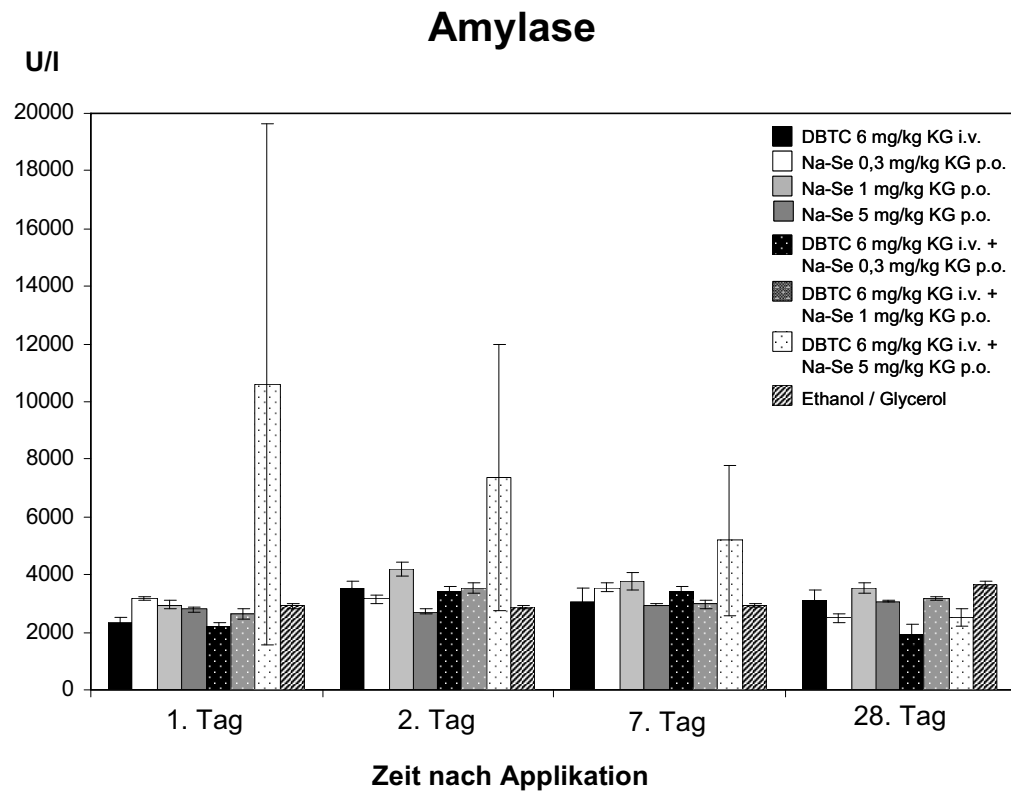


Diagramm 1: Serumkonzentration von **Amylase** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol
 Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
 * signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

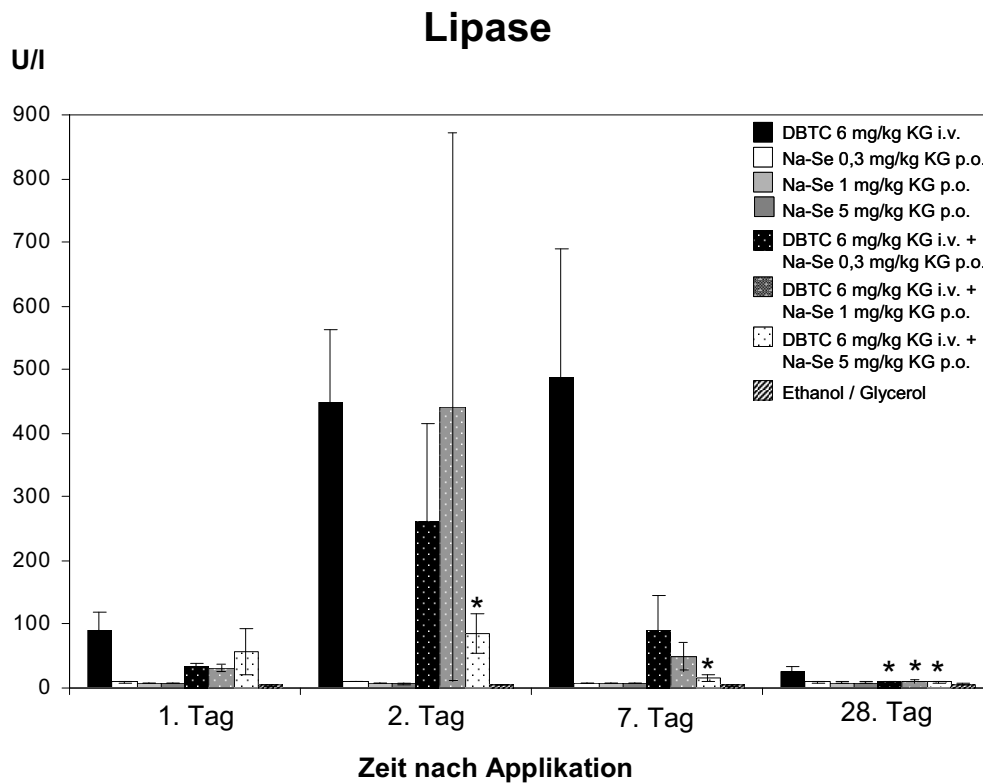


Diagramm 2: Serumkonzentration von **Lipase** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol
 Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
 * signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Alkalische Phosphatase

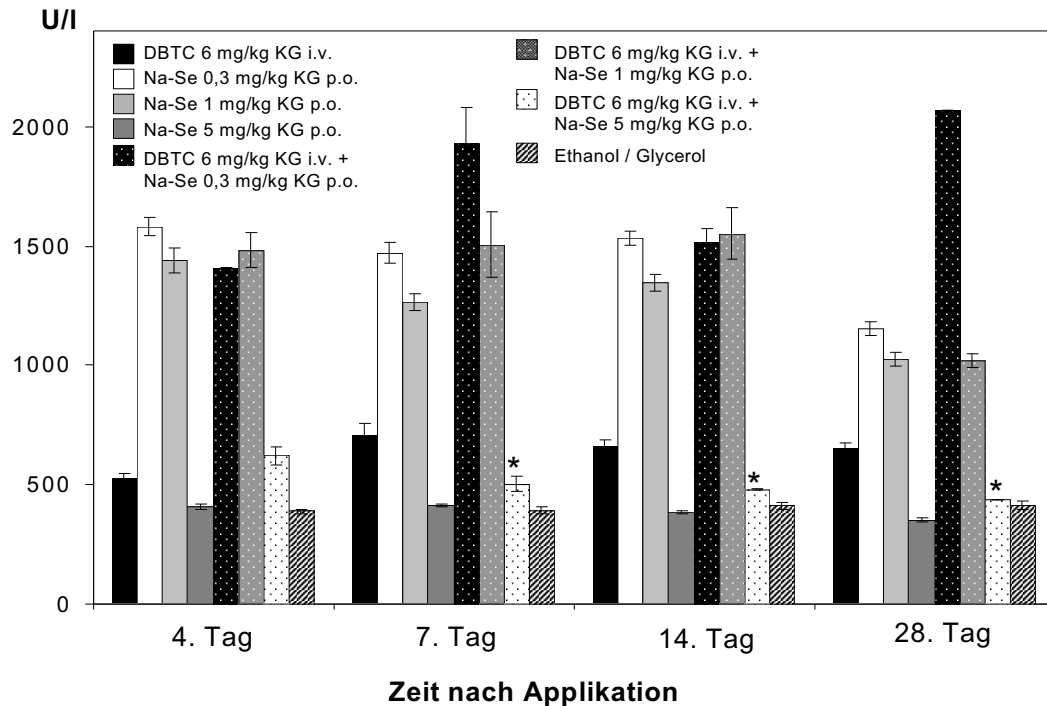


Diagramm 3: Serumkonzentration von **AP** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol
Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Bilirubin

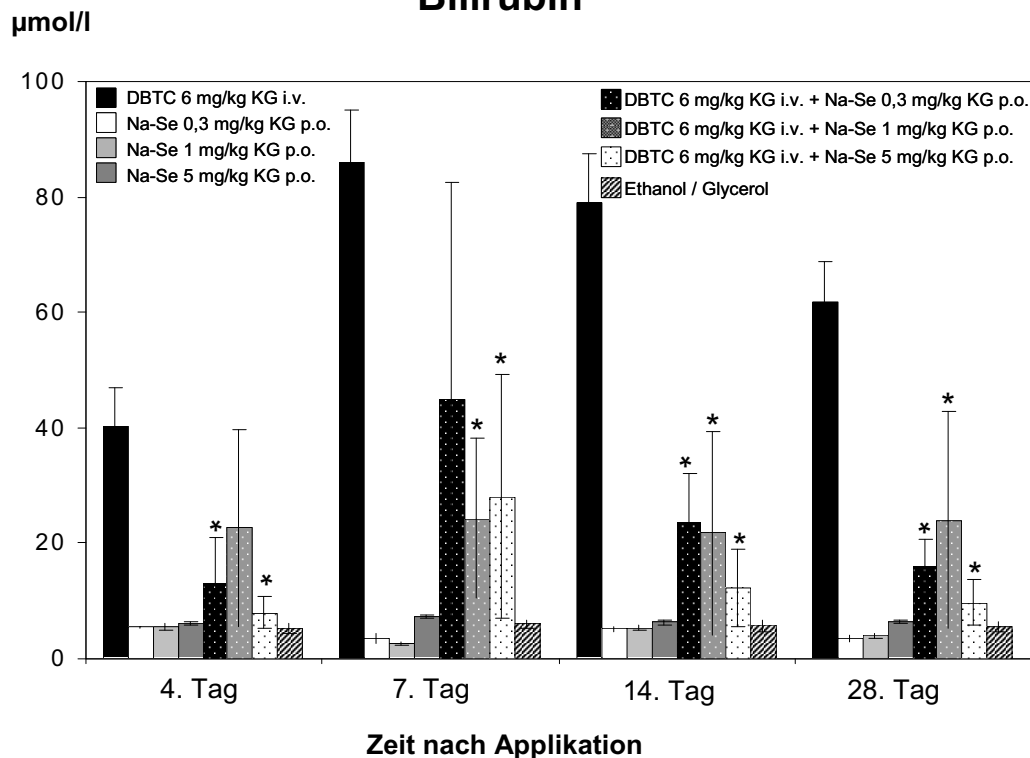


Diagramm 4: Serumkonzentration von **Bilirubin** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol
Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

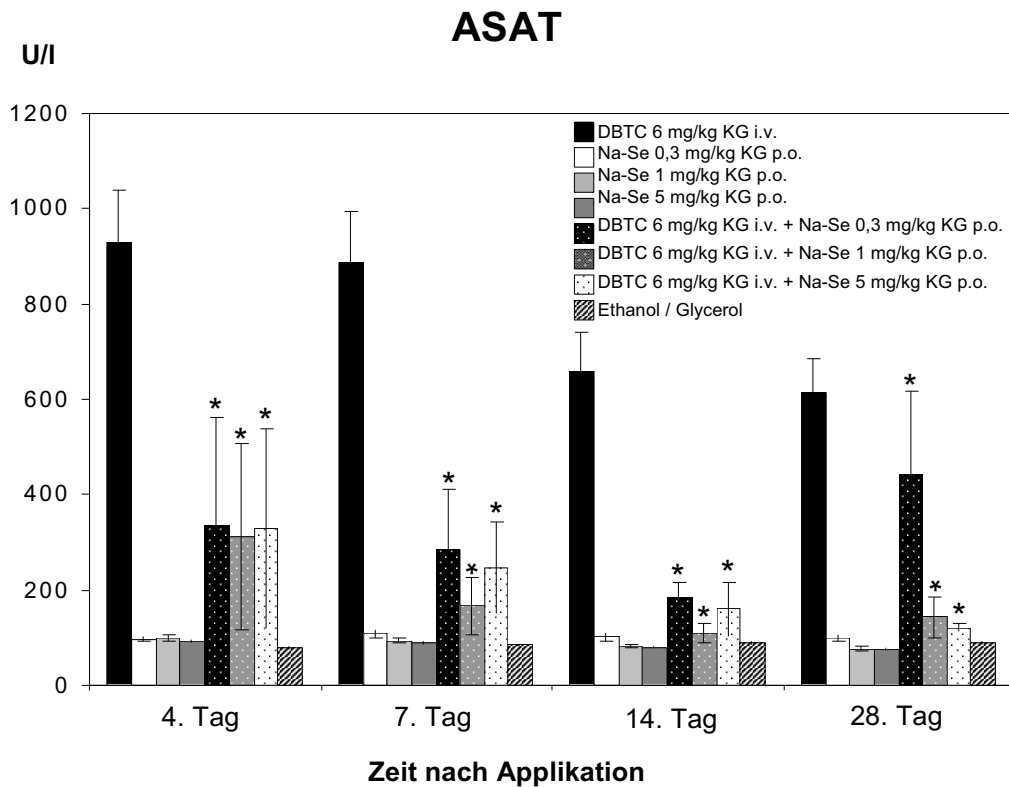


Diagramm 5: Serumkonzentration von **ASAT** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol
 Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
 * signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

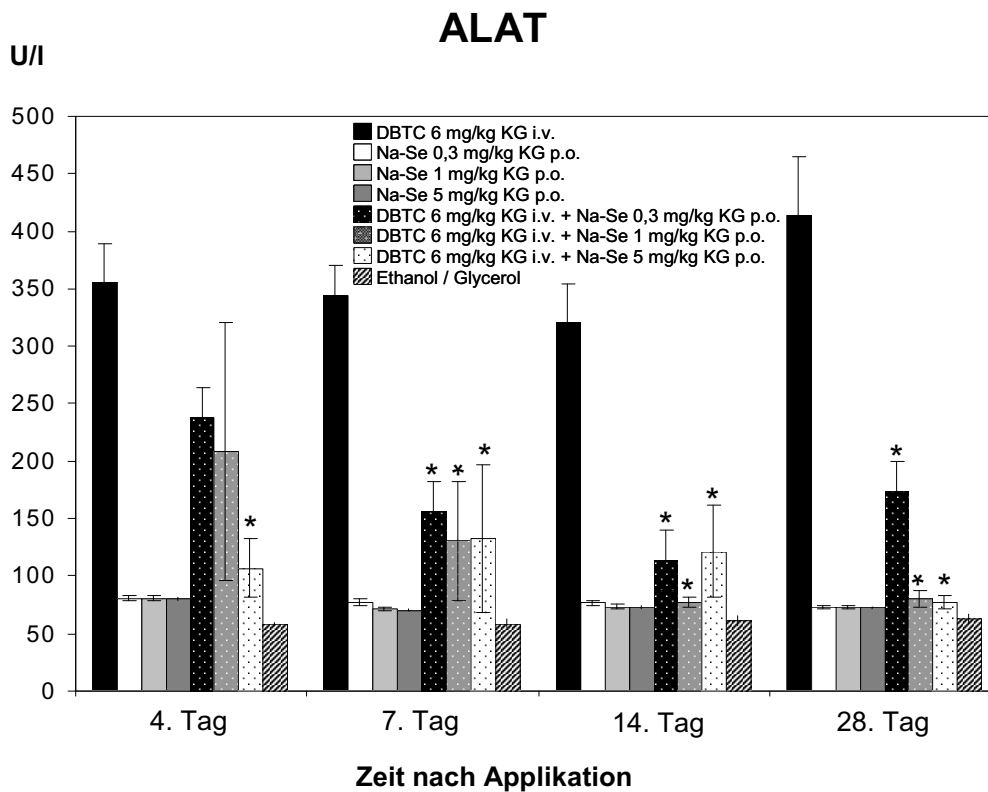


Diagramm 6: Serumkonzentration von **ALAT** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol
 Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
 * signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

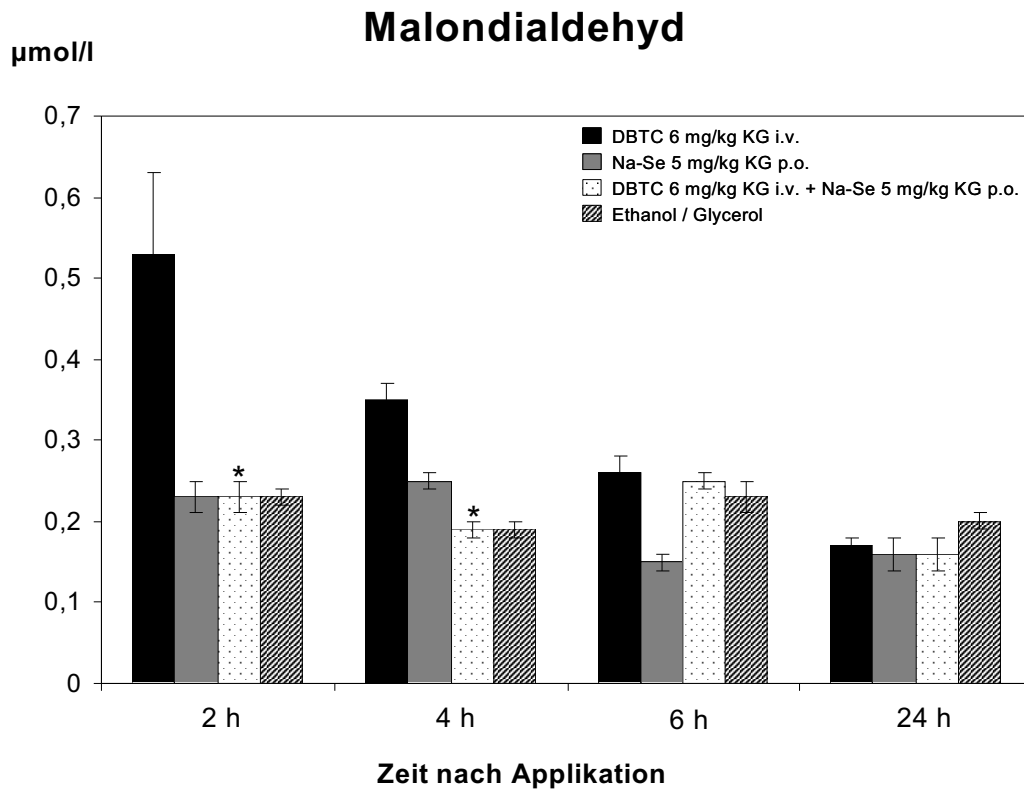


Diagramm 7: Serumkonzentration von **MDA** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol
 Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
 * signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

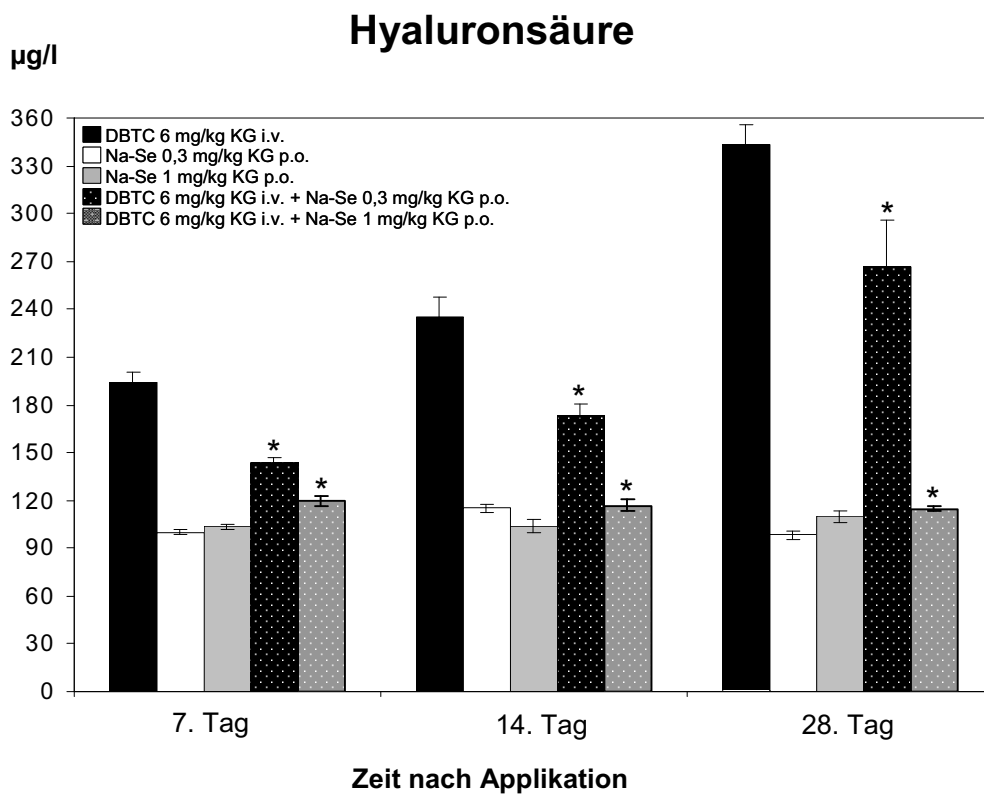


Diagramm 8: Serumkonzentration von **Hyaluronsäure** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit
 Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
 * signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

3.1.6 Zinnkonzentrationen in Galle, Urin und Leber, Pankreas, Thymus, Milz und Nieren nach einmaliger intravenöser Gabe von DBTC (6 mg/kg KG), Natriumselenit und DBTC + Natriumselenit im Zeitraum von 28 Tagen

3.1.6.1 DBTC 6 mg/kg KG einmalig i.v.

In der reinen DBTC-Gruppe zeigte sich die höchste Zinnkonzentration in der Galle 1 h nach Applikation. In der Folge fiel die Zinnausscheidung bis zum 28. Versuchstag kontinuierlich ab. Bei der Messung des Zinngehaltes der den Versuchstieren entnommenen Organe wiesen Leber und Pankreas initial den höchsten Zinngehalt auf, welcher sich zum Ende der Versuchsperiode stetig bis zur Nachweisgrenze verringerte. Ebenso verhielt es sich mit den Konzentrationen von Zinn in Urin und Thymus, aber auf weitaus niedrigerem Niveau (Anhang, Tab. 9-10).

3.1.6.2 Natriumselenit 5 mg/kg KG täglich p.o.

Nach alleiniger Applikation von Natriumselenit konnten zu keinem Versuchszeitpunkt elevierte Zinnkonzentrationen in Galle und Urin objektiviert werden. In Pankreas, Leber und Thymus verzeichneten wir über den Versuchszeitraum von 28 Tagen Konzentrationen von Zinn auf ähnlich hohem Niveau wie in der DBTC-Gruppe (Anhang, Tab. 9-10).

3.1.6.3 DBTC 6 mg/kg KG einmalig i.v. + Natriumselenit 5 mg/kg KG täglich p.o.

Durch Applikation von DBTC und nachfolgender Natriumselenit-Supplementierung maßen wir in der gewonnenen Gallenflüssigkeit 1 h, 2 h, 3 h sowie 4 h nach Versuchsbeginn erhöhte Zinnkonzentrationen im Vergleich zur DBTC-Gruppe (Anhang, Tab. 9). Auch in den entnommenen Organproben stellten sich höhere Zinnmengen in der Leber und im Urin dar. In Pankreas und Thymus verzeichneten wir über den Versuchszeitraum von 28 Tagen Zinnkonzentrationen vergleichbar den Messwerten der DBTC-Gruppe (Anhang, Tab. 10).

3.2 Der Einfluss prophylaktischer Natriumselenit-Applikationen über 7 Tage auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte (Versuchsreihe 2):

3.2.1 Wirkungen von DBTC (6 mg/kg KG) nach einmaliger intravenöser Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen (Versuchsgruppe 1)

Makroskopie

Die makroskopischen Veränderungen der den Ratten entnommenen Organe nach 4, 7, 14 und 28 Tagen wurden detailliert im Abschnitt 3.1.1 dargestellt.

Mikroskopie

Die histologischen Befunde entsprechen ebenfalls denen der Versuchsreihe 1 und wurden im Abschnitt 3.1.1 aufgelistet.

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 11–16, 3.2.5: Diagramm 9–14)

Die Lipase zeigte das höchste Aktivitätsniveau 2 Tage nach einmaliger intravenöser DBTC-Applikation, welches dann im Verlauf abfiel. Bei Auswertung der Messungen der Aktivität der Alkalischen Phosphatase, der ASAT und der Konzentration des Bilirubins zeigte sich ein Maximum 7 Tage nach DBTC-Gabe. Bis zum Versuchsende nach 28 Tagen konnte eine stetige Regredienz der Messwerte verzeichnet werden. Demgegenüber erreichten die Serumaktivitäten der ALAT ihr Maximum erst nach 14 Tagen, um dann im Verlauf leicht abzufallen. Bezüglich der von uns gemessenen MDA-Spiegel im Serum der Versuchstiere stellte sich die höchste Konzentration 1 h nach DBTC-Applikation dar, zu den weiteren Messpunkten nach 2, 4 und 24 h konnte dann eine stetige Konzentrationsabnahme detektiert werden.

3.2.2 Wirkungen von Natriumselenit bei täglicher oraler Applikation von 5 mg/kg KG über 7 Tage auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen (Versuchsgruppe 2)

Makroskopie

Über den gesamten Versuch von 28 Tagen konnten zu keinem Zeitpunkt pathologische Befunde an Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus nach täglicher Natriumselenit-Applikation erhoben werden (Abb. 18).

Mikroskopie

Histologisch ließen sich über den Beobachtungszeitraum von 28 Tagen ebenfalls keine Läsionen an den entnommenen Organen objektivieren (Abb. 19-20).

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 11–16, 3.2.5: Diagramm 9–14)

Es fanden sich zu keinem Zeitpunkt Elevationen der Enzymaktivitäten oder Serumkonzentrationen von Lipase, Alkalische Phosphatase, Bilirubin, ASAT und ALAT nach Applikation von Natriumselenit. Auch die Serumspiegel des Malondialdehyd zeigten sich zu jedem Zeitpunkt der Probenentnahme im Normbereich.

3.2.3 Wirkungen einer prophylaktischen täglichen oralen Natriumselenit-Applikation über 7 Tage auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen nach einmaliger intravenöser Applikation von DBTC (6 mg/kg KG) (Versuchsgruppe 3)

Makroskopie

4 Tage nach Applikation von DBTC nach vorangegangenen 7 Tagen prophylaktischer Natriumselenit-Gaben ließen sich pathomorphologisch nur marginale Veränderungen an den entnommenen Organen im Vergleich zur Versuchsgruppe 1 verifizieren. Am Pankreaskopf stellte sich ein diskretes periductal gelegenes interstitielles Ödem dar.

Der Galle-Pankreasgang zeigte sich zwar dilatiert, aber in deutlich geringerem Ausmaß als bei den mit DBTC allein behandelten Tieren. Der maximal gefundene Durchmesser betrug 3 mm, intraluminale Konkremente waren nicht objektivierbar. Die pathologischen Befunde an der Leber waren ebenso diskret ausgeprägt wie am Pankreas. Bis auf eine geringe Konsistenzvermehrung waren keine weiteren Auffälligkeiten detektierbar. Sowohl Nieren als auch die Milz ließen keine Abnormitäten erkennen, der Thymus bot eine diskrete Gewichtsabnahme als Zeichen einer parenchymatösen Atrophie.

Im Verlauf des Versuches konnten nach **7 Tagen** keine gravierenden Veränderungen gegenüber den Befunden von 4 Tagen nach Beobachtungsbeginn verifiziert werden. Sowohl das Pankreaskopfödem als auch die marginale Galle-Pankreasgang-Dilatation bildeten sich auf gleichem Niveau ab, aber deutlich regredienter gegenüber den makroskopischen Ergebnissen der Versuchsgruppe 1. Auch die hepatischen Pathologien stellten sich vergleichbar dar. Die Befunde an Nieren, Milz und Thymus entsprachen denen nach 4 Tagen ab Versuchsbeginn (Abb. 18).

Im Beobachtungszeitraum von **14 bis 28 Tagen** stellten sich das Pankreas sowie das Galle-Pankreasgangsystem ohne pathologischen Befund dar. Auch die Leber wies keine makroskopisch auffälligen Veränderungen auf. Auch die restlichen präparierten Organe wie Nieren, Milz und Thymus ließen keine pathologischen Läsionen erkennen.

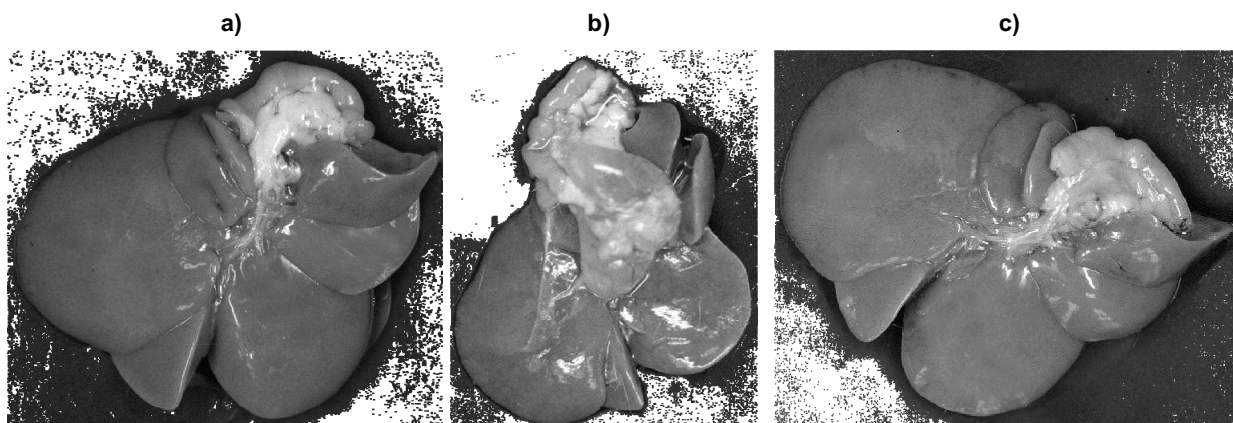


Abb. 18: Hepar mit Galle-Pankreasgang und Pankreaskopf:

- a) 7 Tage nach Applikation von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.)
- b) 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.)
- c) 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) bei vorheriger prophylaktischer Gabe von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.) über 7 Tage

Mikroskopie

4 Tage nach Applikation von DBTC und vorangehenden prophylaktischen Natriumselenit-Gaben über 7 Tage stellte sich im Caput pancreatis ein interstitielles Ödem begleitet von Granulozyteninfiltraten als Ausdruck einer Entzündungsreaktion dar. In histologischen Anschnitten des Pankreasgangsystems fielen diskrete Erweiterungen des Lumens auf, Zelldebris war nicht erkennbar. Intrahepatisch imponierten in der feingeweblichen Begutachtung Entzündungszellakkumulationen im Periportalfeld einhergehend mit Gallengangshyperplasien. An Nieren, Milz und Thymus waren keine pathologischen Befunde objektivierbar.

7 Tage nach Beginn der Versuchsreihe kamen histopathologisch im Pankreaskopf vor allem Entzündungszellinfiltrationen sowie ödematöse Veränderungen zur Darstellung, ebenfalls hyperplastische Pankreasganganschnitte. Die Leber präsentierte sich lichtmikroskopisch mit marginalen fokalen inflammatorischen Reaktionen im Portalfeld, Nekroseareale waren nicht detektierbar. Die restlichen begutachteten Organe (Nieren, Milz und Thymus) boten keine Pathologien (Abb. 19-20).

Im Zeitraum von **14 bis 28 Tagen** ließen sich histologisch keine pathologischen Befunde an Pankreas, Leber, Nieren, Milz und Thymus verifizieren.

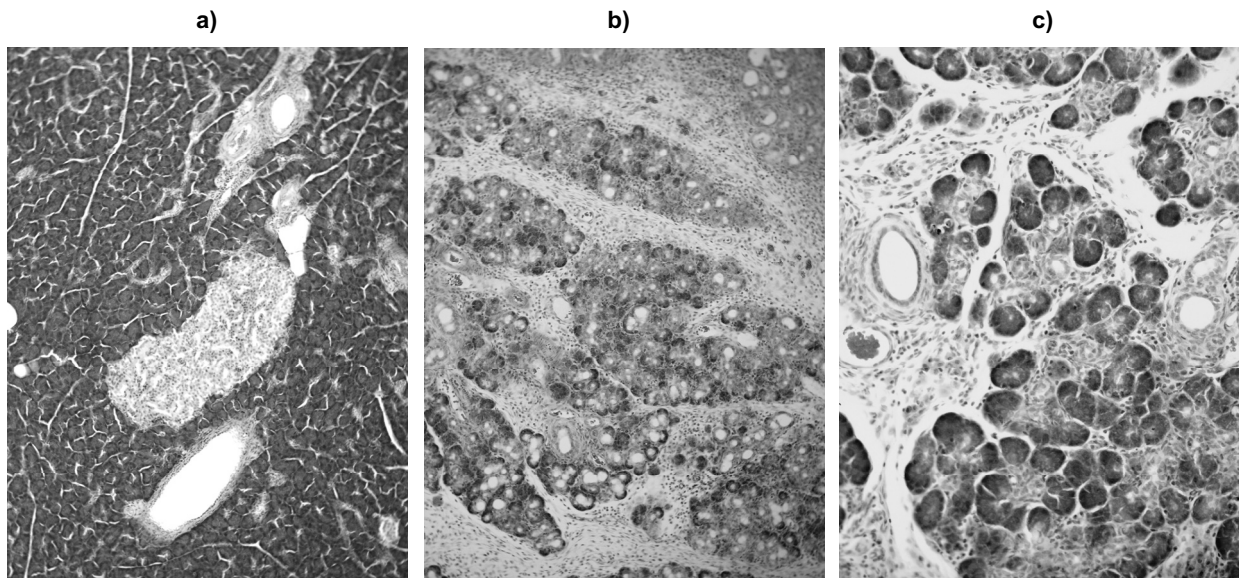


Abb. 19: Pankreas. HE x 26

a) 7 Tage nach Applikation von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.)

b) 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.)

c) 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) bei vorheriger prophylaktischer Gabe von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.) über 7 Tage

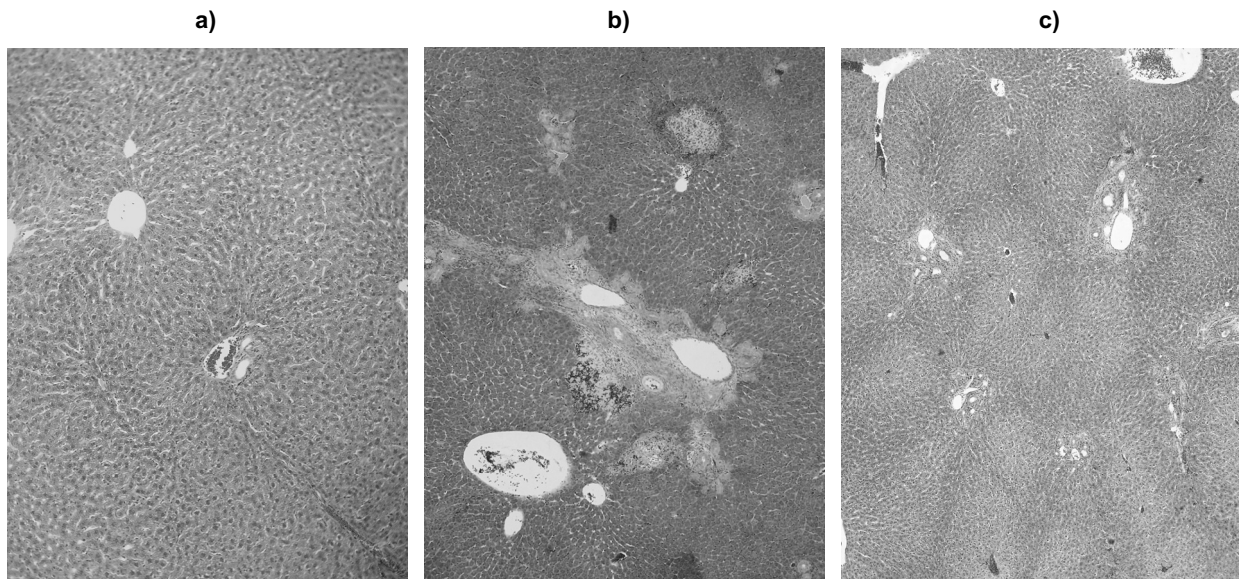


Abb. 20: Hepar. HE x 26

a) 7 Tage nach Applikation von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.)

b) 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.)

c) 7 Tage nach Applikation von DBTC (6 mg/kg KG i.v.) bei vorheriger prophylaktischer Gabe von Natriumselenit (5 mg/kg KG p.o.) über 7 Tage

Pathobiochemische Parameter

(Anhang: Tab. 11–16, 3.2.5: Diagramm 9–14)

Nach 7-tägiger prophylaktischer Natriumselenit-Applikation und anschließender Gabe von DBTC ließen sich zu jedem Messpunkt nach 1, 2 und 7 Tagen signifikante Senkungen der Lipaseaktivität im Vergleich zu allein mit DBTC behandelten Tieren der Versuchsgruppe 1 detektieren. Bei Betrachtung der Messergebnisse der Alkalischen Phosphatase konnten signifikante Aktivitätssenkungen ebenfalls 7, 14 und 28 Tage nach Versuchsbeginn beobachtet werden. Einzig nach 2 Tagen war die Enzymaktivität vergleichbar mit allen anderen Versuchsgruppen ohne tendenzielle oder signifikante Senkung. In Auswertung der Aktivitätsniveaus von ASAT und ALAT sowie der Serumkonzentration von Bilirubin stellten sich zu allen Messpunkten nach 2, 7, 14 und 28 Tagen signifikante Senkungen im Vergleich zu Versuchsgruppe 1 dar.

Malondialdehyd konnte 2, 4 und 24 h nach Applikation von DBTC als signifikant gesenkt gemessen werden. Nach 1 h ließ sich allenfalls eine tendenzielle Senkung der Konzentration im Serum im Vergleich zur Versuchsgruppe 1 verzeichnen.

3.2.4 Wirkungen von Ethanol/Glycerol bei einmaliger intravenöser Applikation auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte im Zeitraum von 28 Tagen (Versuchsgruppe 4)

Makroskopie

Die den Versuchstieren entnommenen Organe wiesen keine pathologischen Befunde auf.

Mikroskopie

In den histologischen Aufarbeitungen der präparierten Organe stellten sich keine Auffälligkeiten dar.

Enzymaktivitäten

(Anhang: Tab. 11–16, 3.2.5: Diagramm 9–14)

Die durch uns gemessenen Aktivitäten von Lipase, Alkalische Phosphatase, ASAT, und ALAT sowie Serumkonzentrationen von Bilirubin und MDA zeigten keine pathologischen Elevationen. Die Enzymaktivitäten beziehungsweise Serumkonzentrationen entsprachen denen der Natriumselenit-Gruppen und wurden im Vergleich zur DBTC-Gruppe deutlich erniedrigt gemessen.

3.2.5 Grafische Gegenüberstellung der Ergebnisse aus Versuchsreihe 2

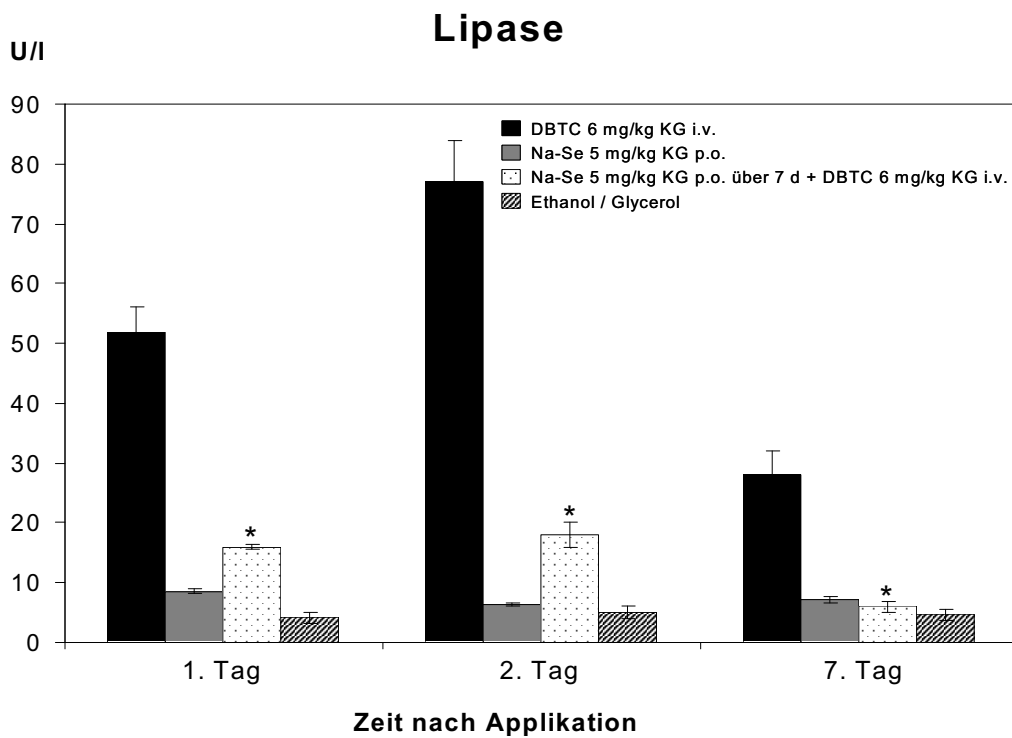


Diagramm 9: Serumkonzentration von **Lipase** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, Natriumselenit über 7 Tage + DBTC und Ethanol / Glycerol
Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
* signifikanter Unterschied ($p < 0,05$); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

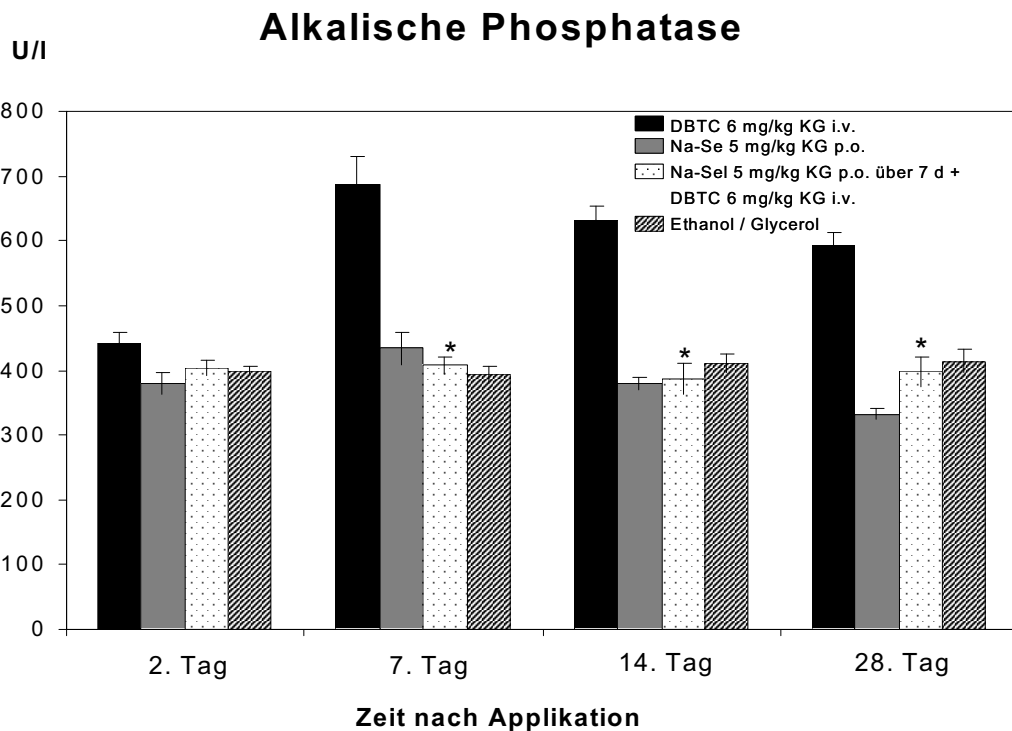


Diagramm 10: Serumkonzentration von **Alkalische Phosphatase** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, Natriumselenit über 7 Tage + DBTC und Ethanol / Glycerol
Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
* signifikanter Unterschied ($p < 0,05$); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Bilirubin

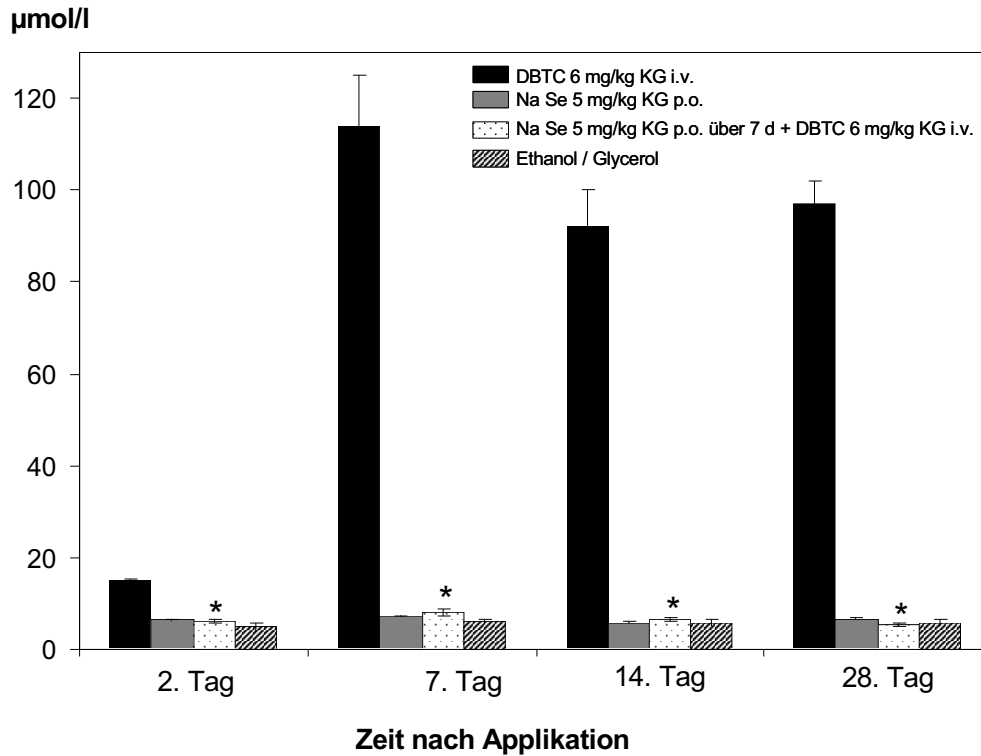


Diagramm 11: Serumkonzentration von **Bilirubin** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, Natriumselenit über 7 Tage + DBTC und Ethanol / Glycerol
Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
* signifikanter Unterschied ($p < 0,05$); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

ASAT

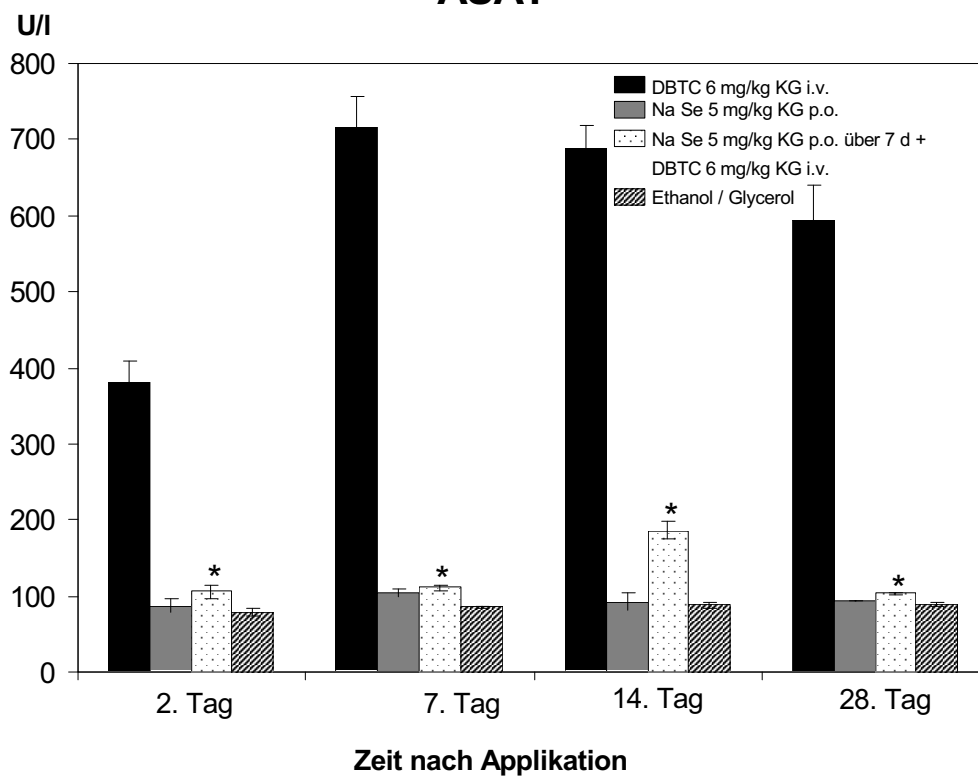


Diagramm 12: Serumkonzentration von **ASAT** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, Natriumselenit über 7 Tage + DBTC und Ethanol / Glycerol
Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
* signifikanter Unterschied ($p < 0,05$); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

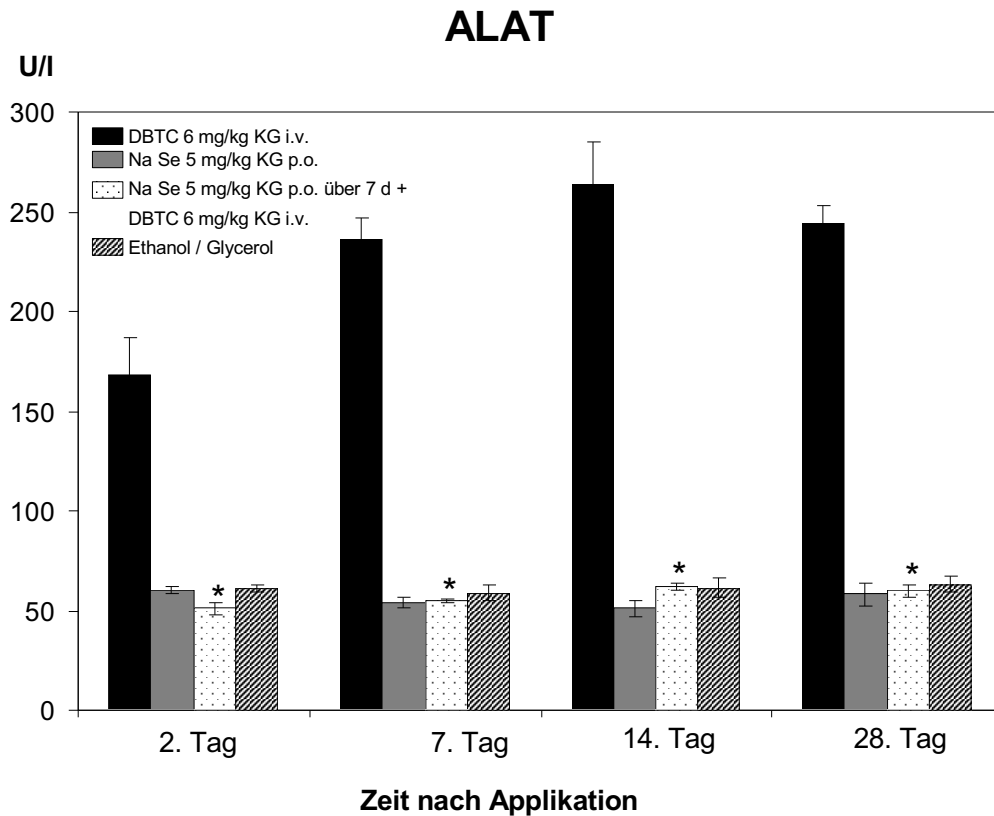


Diagramm 13: Serumkonzentration von **ALAT** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, Natriumselenit über 7 Tage + DBTC und Ethanol / Glycerol
Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
* signifikanter Unterschied ($p < 0,05$); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

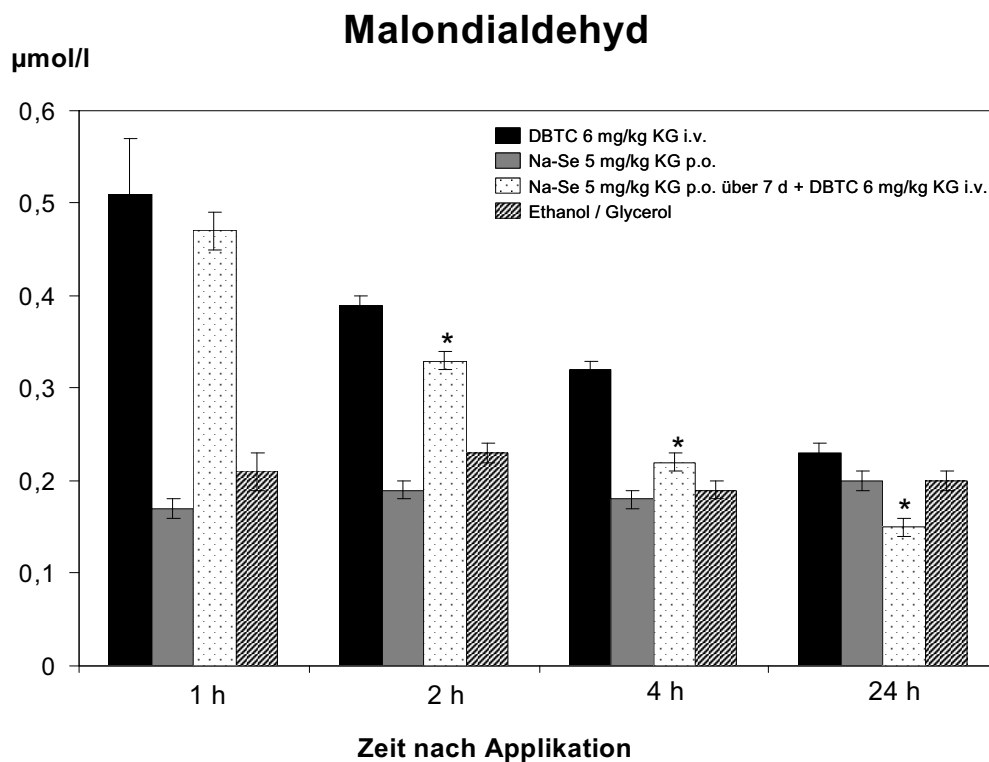


Diagramm 14: Serumkonzentration von **MDA** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, Natriumselenit über 7 Tage + DBTC und Ethanol / Glycerol
Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; n= 6
* signifikanter Unterschied ($p < 0,05$); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

4. Diskussion

Die Pankreatitis ist mit einer Inzidenz von ca. 20 Fällen/100000 Einwohner/Jahr ein häufiges Krankheitsbild im klinischen Alltag. Addiert man akute Schübe chronischer Pankreatitiden hinzu, steigt die Inzidenz auf bis zu 40 Fälle /100000 Einwohner/Jahr (Büchler et al. 1996, 2004). Letalitätsraten von ca. 10 % verdeutlichen die Notwendigkeit einer schnellen und gezielten therapeutischen Intervention. Essentiell muss daher das Verständnis von der Pathogenese der Erkrankung sein, um die Progression der Pankreatitis zu vermeiden beziehungsweise den Krankheitsverlauf positiv zu beeinflussen.

Verschiedenste Arbeitsgruppen widmen sich daher seit Jahren dieser Thematik mit dem Ziel, die pathogenetische Sequenz zu entschlüsseln, welche die Basis für die Ausbildung der Pankreatitis darstellt. Hervorzuheben ist in Zusammenschau der Ergebnisse, dass freie Sauerstoffradikale im Entstehungsprozess des Krankheitsbildes eine entscheidende Rolle spielen (Sanfey et al. 1984, Braganza et al. 1988, Schoenberg et al. 1992, Sweiry et al. 1996, Hardman et al. 2005). Darauf Bezug nehmend wurde in klinischen Studien der Effekt von Substanzen geprüft, welche den oxidativen Stress, getriggert durch freie Sauerstoffradikale, minimieren sollen. Die Arbeitsgruppe um Kuklinski untersuchte den Einfluss von Natriumselenit als Antioxidans bei Patienten mit akuter Pankreatitis mit dem Resultat signifikanter Letalitätssenkungen im Vergleich zur Kontrollgruppe (Kuklinski et al. 1991, 1992, 1995). Aufgrund konträrer Ergebnisse bei vergleichbaren klinischen Studien, die allenfalls einen geringen beziehungsweise keinen signifikanten therapeutischen Effekt von Natriumselenit bei Patienten mit akuter Pankreatitis aufzeigen konnten (Stopinski et al. 1994, Lindner et al. 2004), versucht die vorliegende Arbeit mit einem experimentellen Versuchsansatz am Tiermodell die Relevanz und Effektivität einer Antioxidantientherapie mit Natriumselenit zu diskutieren.

Grundlage bildet ein tierexperimentelles Modell zur Induktion einer akuten sowie chronischen Pankreatitis mittels Applikation der Organozinnverbindung Dibutylzinnchlorid, entwickelt und etabliert durch Merkord et al. (Merkord et al. 1997, 1998).

Unsere Ergebnisse zeigen auf, dass sich sowohl makroskopisch, mikroskopisch als auch serochemisch durch DBTC in Abhängigkeit von der Zeit eine akute und chronische Pankreatitis induzieren lässt. Makroskopisch bot sich mit zunehmender Versuchsdauer ein Pankreaskopfödem, welches nach 14 Tagen Aspekte einer beginnenden Fibrose aufwies. Nach 28 Tagen imponierte dann eine ausgedehnte Pankreasfibrose als Korrelat einer chronischen Pankreatitis. Paraklinisch bestätigte sich das pathomorphologische Bild der Entzündungsreaktion durch elevierte pankreas-spezifische Enzymaktivitäten. Nach Induktion der Pankreatitis durch DBTC detektierten wir gesteigerte Lipaseaktivitäten mit Maxima am 2. und 7. Tag im Vergleich zur Kontrollgruppe als Ausdruck der akuten Pankreasschädigung im Rahmen der inflammatorischen Reaktion. Dies korreliert mit Ergebnissen vorheriger Studien (Görl et al. 2006 und 2007, Lemke et al. 2006).

Als Marker des oxidativen Stresses wurde Malondialdehyd im Serum bestimmt, dessen Konzentrationssteigerung erhöhte Peroxidationsraten von Membran-Phospholipidfettsäuren durch freie Sauerstoffradikale widerspiegelt (Kuklinski et al. 1991, Stopinski et al. 1994, Wollschläger et al. 1997). Die MDA-Serumspiegel zeigten sich nach Induktion einer Pankreatitis deutlich eleviert mit Maxima in der 1. und 2. Stunde nach DBTC-Applikation, um dann regredient zu verlaufen und sich den Serumspiegeln der Kontrollgruppe anzugleichen. Die erhöhte Serumkonzentration muss demzufolge Ausdruck einer gestörten Balance zwischen Oxidantien und Antioxidantien im akuten Entzündungsprozess sein. Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Kuklinski et al. sowie Wollschläger et al. postulierten konforme Ergebnisse, die die Hypothese, dass die akute Pankreatitis einer „Free Radical Disease“ entspricht, bestätigen (Kuklinski et al. 1991, 1992, 1995, Wollschläger et al. 1997). Auch Studien an anderen tierexperimentellen Modellen zur Induktion einer Pankreatitis zeigten eine gesteigerte Lipidperoxidation durch freie Sauerstoffradikale auf, objektivierbar durch erhöhte MDA-Serumkonzentrationen. Interessanterweise wurden in diesen Untersuchungen maximale Serumspiegel von MDA erst 6-8 Stunden (Nonaka et al. 1989 und 1990, Schoenberg et al. 1991) sowie 6 und 12 Stunden nach Induktion einer Pankreatitis an der Ratte detektiert (Kowai et al. 1989).

Die von uns gemessenen frühen Anstiege des MDA im Serum, welche auch in vorherigen Studien belegt wurden (Görl et al. 2006 und 2007, Lemke et al. 2006), könnten im differenten tierexperimentellen Ansatz zur Induktion der Pankreatitis begründet sein.

In den Versuchen von Nonaka, Schoenberg und Kowai erfolgte diese durch intraperitoneale Cerulein-Applikation beziehungsweise durch Verschluss des Ductus hepatopancreaticus. Aufgrund der von uns bevorzugten intravenösen DBTC-Injektion könnte das auslösende Agens schneller im Organismus anfluten und seine toxischen Wirkungen entfalten. Damit wären die frühen MDA-Elevationen in den ersten zwei Stunden nach Induktion einer Pankreatitis belegbar. Die Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass Sauerstoffradikale bereits in einem frühen Stadium der akuten Pankreatitis freigesetzt werden. Trotzdem kann dies nicht die Frage beantworten, ob eine vermehrte Lipidperoxidation Auslöser oder Auswirkung der akuten Pankreatitis ist.

Aufgrund dieser Forschungsergebnisse scheint eine Therapie mit Sauerstoff-Radikal Scavengers zur Beeinflussung des oxidativen Stresses und dem damit in Zusammenhang stehenden Pankreatitisverlauf sinnvoll. Erste diesbezügliche Versuche begannen Braganza et al. durch Applikation von N-Acetylcystein bei Patienten, die an akuter Pankreatitis erkrankten (Braganza et al. 1986). Uden et al. prüften eine antioxidative Therapie mittels einer Kombination aus Selen, Vitamin C, Vitamin E und L-Methionin (Uden et al. 1989). Die Antioxidantientherapie hatte nach Aussage der Autoren positive Effekte bezüglich der Schmerzausprägung und Verhinderung erneuter Schübe einer Pankreatitis. Nachdem in den 90er Jahren mehrere selenabhängige körpereigene Enzyme entdeckt wurden (Behne et al. 1995, Schrauzer 1998), mit der Glutathionperoxidase als wichtigstem Selenoprotein, dessen Bedeutung als antioxidatives Enzym im Stoffwechsel bekannt war, erschien eine Supplementation mit dem Spurenelement Selen ein Erfolg versprechender Therapieansatz. Tatsächlich belegen mehrere Studien einen Zusammenhang zwischen der gemessenen Serumselenkonzentration und der Glutathionperoxidaseaktivität. Hervorzuheben sind die Ergebnisse von Zelck et al. und Wollschläger et al., die durch Applikation von Selen erhöhte Enzym Spiegel im Serum belegen konnten (Zelck et al. 1993, Wollschläger et al. 1997). Weitere Arbeitsgruppen konnten diesen Zusammenhang bereits in früheren Studien bestätigen (Thomson et al. 1982, Johannson et al. 1988).

Dem gegenüber zeigten Siegers et al. in einer Korrelationsanalyse zwischen Serumselenspiegeln und der Glutathionperoxidaseaktivität nur eine eingeschränkte Abhängigkeit auf.

Erst bei erniedrigten Ausgangsselenpiegeln im Serum bei Patienten mit akuter Pankreatitis kann eine Aktivitätserhöhung der Glutathionperoxidase im Krankheitsverlauf postuliert werden, während im Bereich normwertiger Basisselenpiegel (Plasmakonzentration $> 30\mu\text{g/l}$) eine ausreichende Aktivität der selenabhängigen Peroxidase bei Patienten mit akuter Pankreatitis messbar war (Siegiers et al. 1994).

Ausgehend von Studien, welche belegen konnten, dass bei Patienten mit akuter Pankreatitis erniedrigte Serumselenspiegel gemessen wurden (Kuklinski et al. 1991, Birk et al. 1995, Zimmermann et al. 2000), erfolgte an unserem tierexperimentellen Modell nach Induktion einer Pankreatitis die Natriumselenit-Supplementierung. Zuvor wurden in weiteren Versuchsgruppen die Auswirkungen alleiniger oraler Natriumselenit-Applikationen an der Ratte untersucht. Verabreicht wurden Dosen von 0,3 mg/kg KG, 1,0 mg/kg KG und 5,0 mg/kg KG über einen Versuchszeitraum von 28 Tagen täglich oral über eine Schlündelsonde. Diese Ergebnisse zeigen auf, dass weder makroskopisch noch mikroskopisch pathologische Befunde an Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus der Ratte erhoben werden konnten. Die entnommenen Organproben entsprechen nach pathomorphologischer Auswertung denen der Kontrollgruppe und korrelieren mit den Ergebnissen vorheriger Studien (Görl et al. 2006 und 2007, Lemke et al. 2006). Die gemessenen Enzymaktivitäten ließen im Vergleich zur Kontrollgruppe mitunter differente Aussagen zu. Während bei den Pankreatitis-spezifischen Serummarkern (Amylase/Lipase) ähnliche Aktivitätsniveaus vorgefunden wurden (Anhang, Tab. 1-2), detektierten wir bis zu 3 fach erhöhte Serumkonzentrationen der Alkalischen Phosphatase im Vergleich zur Kontrollgruppe bei normwertigen Bilirubinspiegeln (Anhang, Tab. 3-4). Die gemessenen elevierten AP-Aktivitäten können unseres Erachtens nur unzureichend in Zusammenhang mit Natriumselenit-Applikationen gesehen werden, zumal in Anbetracht der unauffälligen klinischen und pathomorphologischen Ergebnisse keine Relevanz bezüglich toxischer Effekte aufzuzeigen war. Möglicherweise müssen hierbei präanalytische und analytische Fehler in Betracht gezogen werden.

Die Aktivitäten der Transaminasen waren vergleichbar mit denen der Kontrollgruppe (Anhang, Tab. 5-6). Malondialdehyd, als Indikator des oxidativen Stresses, sowie Hyaluronsäure als Parameter parenchymatöser Strukturdefekte bildeten sich paraklinisch den Serumkonzentrationen der Kontrollgruppe entsprechend ab (Anhang, Tab. 7-8).

Infolge der dargestellten Ergebnisse kann postuliert werden, dass die alleinige Natriumselenit-Applikation an der Ratte keine toxischen Wirkungen an den untersuchten Organen entfaltet und bis auf eine Elevation der Alkalischen Phosphatase keine Veränderungen der Enzymaktivitäten und Konzentrationen pathobiochemischer Parameter im Vergleich zur Kontrollgruppe induziert.

Toxizitätsstudien am Menschen beschrieben Maximaldosen von 0,05 mg/kg KG als orale Einmaldosis beziehungsweise 0,005 mg/kg KG als orale Aufnahme über einen längeren Zeitraum als unbedenklich, um das Auftreten toxischer Wirkungen zu vermeiden (Olseon et al. 1986). Weshalb bei Verabreichung relativ hoher Dosen in unseren Versuchsanordnungen keine toxischen Wirkungen belegt wurden, könnte zum einen in zum Menschen divergenten pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Prozessen an der Ratte begründet sein, zum anderen darin, dass bei zu hoher Natriumselenit-Zufuhr dessen Metabolismus im Organismus der Ratte beschleunigt werden könnte und vermehrt Di- oder Trimethylselenitverbindungen renal und über die Atemwege ausgeschieden werden. Kuklinski et al. bestätigen diese Vermutung bei Natriumselenit-Supplementierung mit Dosen im Milligrammbereich im Rahmen klinischer Studien (Kuklinski et al. 1995).

In Versuchsgruppe 3 der 1. Versuchsreihe prüften wir daraufhin den Einfluss von Natriumselenit in drei verschiedenen Dosierungen (0,3 mg/kg KG; 1,0 mg/kg KG; 5,0 mg/kg KG) auf die durch DBTC induzierte Pankreatitis an der Ratte. Makroskopisch und mikroskopisch ließ sich eine deutlich milder verlaufende Entzündungsreaktion am Pankreas, im Vergleich zu den allein mit DBTC behandelten Tieren, detektieren. Die Dilatation des Galle-Pankreasganges imponierte gleichfalls weniger stark ausgeprägt, ebenso wie die Pathologien an den übrigen entnommenen Organen. Im Vergleich zur Versuchsgruppe 1, in welcher DBTC allein injiziert wurde, lässt sich pathomorphologisch objektivieren, dass die Natriumselenit-Applikationen in Abhängigkeit von der Dosis unterschiedlich starke Effekte bewirken.

Dabei zeigten die Dosierungen von 0,3 mg/kg KG den geringsten Einfluss auf den Verlauf der akuten beziehungsweise Übergang in die chronische Pankreatitis, eine orale tägliche Gabe von 5,0 mg/kg KG jedoch den wirkungsvollsten Effekt. Paraklinisch spiegelten sich die makroskopischen und mikroskopischen Befunde ebenfalls wider.

Die gemessenen Enzymkonzentrationen zeigten eine dosisabhängige Aktivitätsreduktion auf, wobei eine Natriumselenit-Applikation von 5,0 mg/kg KG den

ausgeprägtesten Effekt auf die serochemischen Parameter der Pankreatitis, die Cholestase und die Leberparenchymschädigungen erkennen ließ, abzulesen an zumeist signifikanten Aktivitäts- und Konzentrationssenkungen der entsprechenden pathobiochemischen Marker. Hervorzuheben ist hierbei die Auffälligkeit, dass die signifikanten Aktivitätsreduktionen der Enzymsysteme mit einer Latenz von 2-7 Tagen nach Induktion der Pankreatitis durch DBTC einsetzten. Ursächlich dafür könnte die Synthesedauer der selenabhängigen Glutathionperoxidase sein, die auch durch verschiedene Arbeitsgruppen diskutiert wurde (Kuklinski et al. 1992; Flohe 1997; Zimmermann et al. 1997, 2000). Zelck et al. stellten in einer weiterführenden Studie dar, dass die maximale Aktivität der Glutathionperoxidase erst am dritten Tag nach Initiierung einer Selentherapie gemessen wurde (Zelck et al. 1993). Diese Hypothese wurde durch nachfolgende Untersuchungen von Kuklinski bestätigt (Kuklinski et al. 1995). Diskutabel erscheint, dass 10% der Glutathionperoxidasekapazität selenunabhängig ist (Siegers et al. 1994) und für die initial nur tendenziell erniedrigten Enzymkonzentrationen im Serum verantwortlich sein könnte, bis die selenabhängige Peroxidaseaktivität ihr Maximum erreicht. Dieser Effekt muss aber als nur geringgradig die Enzymaktivität beeinflussend eingestuft werden, so dass zusätzliche Einflussfaktoren bestehen müssen. Wie bereits erwähnt, besteht aufgrund einer Imbalance des Oxidantien- und Antioxidantienstatus im Organismus im Rahmen einer akuten Pankreatitis erhöhter oxidativer Stress, welchen wir in unseren Untersuchungen anhand ausgelenkter Malondialdehydkonzentrationen bei Versuchstieren, die mit DBTC behandelt wurden, nachwiesen. Bereits 2 und 4 Stunden nach Induktion der Pankreatitis wiesen wir einen signifikanten Abfall des MDA bei den Tieren nach, die begleitend mit Natriumselenit supplementiert wurden.

Demzufolge muss ein antioxidativer Soforteffekt von Selen ausgehen, da das Aktivitätsmaximum der selenabhängigen Glutathionperoxidase, wie bereits ausgeführt, frühestens nach 3 Tagen erreicht wird. Diesbezüglich diskutiert werden Beeinflussungen von Membranpotentialen und membranösen Ionenflüssen, die durch Selen moduliert werden (Kuklinski et al. 1991, 1992).

Die Peroxidation von Membranfettsäuren ist Anlass für eine Phospholipase A₂-Aktivierung (Burton et al. 1990, Alfthan et al. 1991) und einen Anstieg des intrazellulären freien Calciums.

Ursachen sind radikal- und MDA-induzierte Membranschädigungen, Calcium-ATPasen-Insuffizienzen sowie Aktivierungen intrazellulärer second-messenger-Systeme (Leslie et al. 1990).

Die Arbeitsgruppe von Kuklinski zeigte auf, dass nach Erstinjektion von Selen ein rascher Calciumanstieg im Serum messbar war (Kuklinski et al. 1991). Das lässt den Schluss zu, dass eine seleninduzierte Inhibierung der Phospholipase A₂-Aktivität und/oder des intrazellulären Calciumeinstroms als Selensoforteffekt erwogen werden muss und damit der frühe Verlauf der akuten Pankreatitis positiv beeinflusst werden könnte (Kuklinski et al. 1991).

Ein weiterer grundsätzlicher Mechanismus in der Beeinflussung der inflammatorischen Reaktion scheint außerdem die seleninduzierte Aktivierung beziehungsweise Inhibierung redoxsensitiver Transkriptionsfaktoren zu sein, der unabhängig von der Glutathionperoxidase und einem Selen-Soforteffekt inflammatorische Reaktionen mit erhöhtem oxidativen Stress reguliert. In verschiedenen Untersuchungen ließ sich ein Effekt des Selen auf molekularer Ebene bestätigen (Zimmermann et al. 1997 und 2000, Forceville et al. 1999). Dabei inhibiert Selen den redoxsensitiven Transkriptionsfaktor NF-κB und im Zuge dessen die Synthese proinflammatorischer Zytokine, welche eine Entzündungsreaktion unterhalten würden. Folglich werden die durch freie Sauerstoffradikale induzierten Wirkungen minimiert. Widersprüchlich erscheint, dass Selen einen weiteren Transkriptionsfaktor, AP-1, aktiviert und somit auch proinflammatorische Effekte ausübt. Von entscheidender Bedeutung ist das Redoxgleichgewicht in der Zelle.

Überwiegt die AP-1-Aktivität, induziert durch Selen, folgt daraufhin eine geringgradig ausgeprägte Entzündungsreaktion im Organismus, während eine hohe NF-κB-Aktivität eine massive inflammatorische Antwort des Organismus nach sich ziehen würde. Eine Natriumselenit-Supplementierung wirkt demzufolge einer ausgeprägten Entzündungsreaktion durch Hemmung von NF-κB und Aktivierung von AP-1 entgegen (Zimmermann et al. 1997 und 2000, Forceville 1999).

Als zusätzlicher seleninduzierter Wirkungsmechanismus in Bezug auf den Verlauf der DBTC induzierten Pankreatitis könnte die beschleunigte Eliminierung der auslösenden toxischen Substanz (DBTC) in Betracht gezogen werden. Diesbezüglich führten wir Exkretionsstudien durch, welche die Messung des Zinns, als Komponente des DBTC, zum Inhalt hatten. In Auswertung der Ergebnisse konnten in der Kombinationsgruppe (DBTC + Natriumselenit) im Vergleich zur Versuchsgruppe, die allein mit DBTC

behandelt wurde, tendenziell höhere Zinnkonzentrationen in der Galle über den gesamten Beobachtungszeitraum bis zu 28 Tagen nach DBTC-Applikation eruiert werden. (Anhang, Tab. 9-10). Auch die gemessenen Zinnkonzentrationen im Urin zeigen auf, dass die Quantität der Zinnexkretion in der Versuchsgruppe, in denen Tieren nach DBTC-Injektion Natriumselenit appliziert wurde, über den vollständigen Zeitraum der Messung im Vergleich zur DBTC-Gruppe zunimmt (Anhang, Tab. 10). In den gewonnenen Organproben stellten sich heterogene Messergebnisse dar. Während im Pankreas 4 Stunden nach DBTC- und Natriumselenit-Applikation tendenziell erniedrigte Zinnkonzentrationen nachweisbar waren, detektierten wir vor allem in der Leber stark erhöhte Zinnwerte nahezu bei allen Messpunkten im Versuchsablauf (Anhang, Tab. 10). Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass Selen möglicherweise die Eliminierung von DBTC, sowohl über die biliäre als auch die renale Exkretion, fördert. Damit könnten die toxischen Wirkungen von DBTC auf die Entwicklung der akuten Pankreatitis reduziert werden. Die erniedrigten Zinnkonzentrationen im Pankreas, 4 Stunden nach DBTC- und Natriumselenit-Applikation im Vergleich zur DBTC-Gruppe, unterstreichen diese Vermutung. Diskutabel erscheinen diese Ergebnisse in Anbetracht vorheriger Studien, die signifikant gesenkte Zinnwerte in der Galle, bevorzugt in den ersten Stunden nach Applikation von DBTC und Natriumselenit, nachwies (Lemke et al. 2006).

Dies wurde auf eine mögliche Komplexbildung zwischen Selen und DBTC zurückgeführt, die über die Atomabsorptionsspektrometrie messtechnisch nicht erfasst werden könnte. Ursächlich für die konträre Datenlage kann zum einen die geringe Anzahl an Versuchstieren sein, zum anderen sollte auch die unterschiedliche Bioverfügbarkeit der im Versuchsaufbau der Studie von Lemke et al. bevorzugten intravenösen Selensupplementierung im Vergleich zur oralen Applikation von Selen in dieser Arbeit berücksichtigt werden. Trotzdem stützen die Ergebnisse die Hypothese, dass die Eliminierung von DBTC durch Selen beschleunigt werden könnte. Unterstrichen wird diese Vermutung durch mehrere Studien, die herausstellten, dass Selen als Antidot bei Intoxikationen mit Quecksilber genutzt werden könnte, da durch Interaktionen zwischen diesen Substanzen Komplexe entstehen, die zu einer gesteigerten Elimination des Quecksilbers führen (Potter et al. 1977, Schrauzer 1990, Wu et al. 1990). Diesbezüglich wären weiterführende Studien zum Einfluss von Selen auf eine mögliche Reduktion toxischer Effekte des DBTC sinnvoll.

Zusammenfassend kann in Anbetracht unserer Ergebnisse ein Soforteffekt des Selen belegt und die anhaltende Beeinflussung des Verlaufes der DBTC induzierten akuten Pankreatitis an der Ratte sowohl auf die selenabhängige Glutathionperoxidaseaktivität als auch auf die Modulierung redoxsensitiver Transkriptionsfaktoren zurückgeführt werden. Möglicherweise spielt zusätzlich auch die gesteigerte Eliminierung der auslösenden toxischen Substanz durch Selen eine entscheidende Rolle. Letztlich münden alle selenabhängigen Effekte in der Reduktion oxidativen Stresses und somit in einer weniger stark ausgeprägten Verlaufsform der akuten Pankreatitis respektive Minimierung der Progression in eine Chronifizierung. Der Übergang in eine chronische Pankreatitis wird durch Selen aufgrund der zuvor beschriebenen Effekte entscheidend beeinflusst, ersichtlich an den makroskopischen und histologischen Befunden sowie der paraklinischen Kinetik mit signifikanten Konzentrations- und Aktivitätssenkungen der evaluierten pathobiochemischen Parameter.

Herauszustellen ist außerdem die über den gesamten Beobachtungszeitraum signifikant gesenkte Hyaluronsäurekonzentration unter Natriumselenit-Supplementierung. Als Indikator membranöser Strukturdefekte lässt eine Elevation dieses Mucopolysaccharids auf eine Bindegewebsvermehrung schließen (Johnsson et al. 2000, Liao et al. 2005).

In Anbetracht der durch Selen beobachteten Konzentrationssenkungen kann folglich eine Reduktion von Zellstrukturdefekten sowie Minimierung von Fibrosierungen unterstellt werden. Dies unterstreicht die Annahme, dass das Risiko der Konversion einer akuten Pankreatitis in die chronische Form deutlich herabgesetzt ist. Diese Ergebnisse und Schlussfolgerungen korrelieren mit anderen Studien, die belegen konnten, dass durch eine antioxidative Therapie mittels Natriumselenit die Entstehung und Progression einer chronischen Pankreatitis positiv beeinflusst wird (McCloy 1998, de las Heras-Castaño et al. 2005, Kirk et al. 2006).

Klinische Studien wiesen nach, dass durch Selensupplementierung im Rahmen einer akuten Pankreatitis eine Letalitätssenkung (Kuklinski et al. 1992, Zimmermann et al. 2000) beziehungsweise leichtere Verlaufsformen mit geringerem Anteil neu entwickelter Komplikationen resultierte (Wollschläger et al. 1997, Lindner et al. 2004). Auffallend waren bei nahezu allen Patienten initial erniedrigte Selenserumkonzentrationen (Kuklinski et al. 1991, Zimmermann et al. 2000). Dies lässt in Anbetracht unserer vorherigen Ergebnisse den Schluss zu, dass eine prophylaktische

Verabreichung von Selen die Entstehung und Progression einer Pankreatitis günstig beeinflussen könnte. Daher untersuchten wir in einer zweiten Versuchsreihe den Effekt einer Natriumselenit-Applikation, die 7 Tage vor Induktion einer Pankreatitis durch DBTC initiiert wurde. Die pathomorphologischen Ergebnisse zeigen auf, dass durch eine prophylaktische Selenapplikation im Vergleich zur DBTC-Gruppe eine weitaus weniger starke Entzündungsreaktion im Pankreas imponierte. Verglichen mit der ersten Versuchsreihe, in welcher die Versuchstiere Natriumselenit erst nach Induktion einer Pankreatitis erhielten, konnten keine gravierenden Unterschiede nachgewiesen werden. Tendenziell waren in der ersten Versuchsreihe in den ersten 7 Tagen makroskopisch marginale Vorteile in Bezug auf die Ausprägung der inflammatorischen Reaktion am Pankreas detektierbar. Die Paraklinik unterstreicht die gewonnenen pathomorphologischen Ergebnisse.

Als Pankreatitis-spezifischer Marker stellte sich die Aktivität der Lipase durch prophylaktische Natriumselenit-Applikationen im Vergleich zur DBTC-Gruppe ebenfalls signifikant reduziert dar und auf ähnlichem Niveau wie die Aktivitäten der Lipase in der ersten Versuchsreihe (Anhang, Tab. 11).

Bemerkenswert erscheinen die signifikant gesenkten Serumaktivitäten der AP und der Bilirubinkonzentration durch Selen als Zeichen verminderter Cholestase (Anhang, Tab. 12-13). Diese Reduktionen waren in der ersten Versuchsreihe nicht eindeutig belegbar. Weiterhin hervorzuheben sind die signifikanten MDA-Senkungen 2, 4 und 24 h nach DBTC-Injektion (Anhang, Tab. 16). Verglichen mit der ersten Versuchsreihe scheint Selen, prophylaktisch appliziert, früher im Versuchsablauf und prolongiert den oxidativen Stress zu minimieren. Die Hypothese von Lindner et al., dass eine Selensubstitution als therapeutische Intervention bei der Pankreatitis zu spät eingesetzt wird um den pathophysiologischen Prozess adäquat zu beeinflussen (Lindner et al. 2004), kann in Anbetracht unserer Ergebnisse nicht untermauert werden. Verglichen mit einer therapeutischen Applikation von Natriumselenit nach Induktion einer Pankreatitis können im Rahmen prophylaktischer Natriumselenit-Gaben nur diskret differente Effekte anhand unserer Ergebnisse aufgezeigt werden. Weder in der Ausprägung der akuten Pankreatitis noch in der Transformation in die chronische Verlaufsform wirkte sich eine zeitversetzte Selensubstitution entscheidend aus. Dabei gehen wir in beiden Versuchsansätzen in Zusammenschau der Resultate von denselben seleninduzierten Effekten aus, die zuvor beschrieben wurden. Allerdings scheint die antioxidative Wirkung des Selens bei einer prophylaktischen

Applikation deutlich länger anhaltend zu sein, was die bis zu 24 Stunden nach Induktion einer akuten Pankreatitis gemessenen, signifikant reduzierten MDA-Konzentrationen unterstreichen. Möglicherweise ist dieser Effekt in einer früher einsetzenden Synthese der selenabhängigen Glutathionperoxidase begründbar, so dass deren volle Funktionskapazität bereits in der Initialphase der akuten Pankreatitis eine Reduktion des oxidativen Stresses bewirkt. Demzufolge wäre eine Supplementierung mit Selen bei Patienten, die zu rezidivierenden Schüben chronischer Pankreatitiden neigen beziehungsweise einem erhöhten Risiko unterliegen, eine akute Pankreatitis zu entwickeln, anhand der aufgezeigten Ergebnisse und Schlussfolgerungen sinnvoll.

Die Arbeitsgruppe um Kuklinski zeigte in einer Korrelationsanalyse stark erniedrigte Serumselenkonzentrationen und erhöhte MDA-Spiegel bei Patienten mit regelmäßigem Alkoholkonsum als Ausdruck einer Oxidantien-Antioxidantien-Dysbalance (Kuklinski et al. 1991 und 1992).

Aufgrund der Tatsache, dass chronischer Alkoholabusus einer der häufigsten Ursachen für die Entstehung einer Pankreatitis ist, wäre beispielsweise in dieser Risikogruppe eine prophylaktische Selensubstitution indiziert, um die Serumselenspiegel anzuheben und oxidativen Stress zu minimieren.

Belegt wurde auch eine selektive Anreicherung von Selen im Pankreasgewebe, welche einen höheren Wirkungsgrad der prophylaktischen Natriumselenit-Therapie unterstreichen dürfte (Zelck et al. 1993). Letztlich könnten so eventuell die Inzidenz und Letalität von Pankreatitiden verringert werden. Als potentielle Indikation einer präventiven Selensubstitution sind diagnostische oder therapeutische Interventionen erwähnenswert, wie zum Beispiel eine endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie (ERCP). Eine Studie von Wollschläger et al. konnte unter dieser Annahme bei Patienten, die einer ERCP zugeführt wurden, jedoch keinen Nutzen einer Prävention mit Natriumselenit belegen. Möglicherweise wird die antioxidative Kapazität der Patienten durch die Auswirkungen der ERCP nicht überschritten (Wollschläger et al. 1999). Aufgrund der nur geringen Patientenzahlen sollten die Ergebnisse kritisch gesehen werden und sich weiterführende klinische Studien anschließen.

Anknüpfungspunkte zum weiteren Einsatz von Selen könnten außer der Pankreatitis andere durch inflammatorische Reaktionen getriggerte Krankheitsbilder sein, welche sich pathogenetisch mit erhöhtem oxidativen Stress assoziieren lassen (Angstwurm et

al. 1999 und 2007). So deklarierte die Arbeitsgruppe um Wenzel et al. die alkoholtoxische Hepatitis als „Free Radical Disease“ und wies unter einer Antioxidantientherapie mit Selen gesenkte MDA-Spiegel nach, die als Ausdruck verminderten oxidativen Stresses gewertet wurden. Ebenfalls stellte sich unter Selensupplementierung eine Normalisierung der paraklinischen Parameter Bilirubin, Ammoniak und der alkalischen Phosphatase ein (Wenzel et al. 1993). Diese Daten lassen sich anhand unserer Ergebnisse nachvollziehen. Die durch DBTC-Injektion induzierte Leberparenchymschädigung, welche über den Beobachtungszeitraum letztlich in eine Zirrhose mündet, ließ sich durch Natriumselenit-Applikationen unterbinden. Ersichtlich war dies sowohl anhand der pathomorphologischen Auswertungen der entnommenen Organe, als auch in Anbetracht der paraklinischen Messwerte, die unter Selensubstitution signifikante Aktivitätssenkungen der Transaminasen über den gesamten Versuchszeitraum erfuhren.

Im Vordergrund der derzeitigen Anwendung des Selen steht der klinische Einsatz in der Intensivmedizin bei Sepsispatienten. Mehrere Arbeitsgruppen stellten heraus, dass eine antioxidative Therapie mit Selen effizient und kostengünstig ist. Zimmermann et al. konnten unter diesem Therapieregime im Rahmen der Dresdner Sepsisstudie eine drastische Reduzierung der 28-Tage-Letalität von 40% auf 15% bei Patienten mit SIRS und Sepsis aufzeigen. Dieser Effekt wurde auf eine signifikante Hemmung der inflammatorischen Reaktion zurückgeführt (Zimmermann et al. 1997 und 2000). Wie auch bei Pankreatitis-Patienten zeigten sich bei diesem Patientengut initial erniedrigte Serumselenspiegel und eine verminderte Glutathionperoxidaseaktivität, welche sich unter Natriumselenit-Supplementierung normalisierten (Gärtner et al. 1997, Zimmermann et al. 2000, Sakr et al. 2007). Auch neuere Studienergebnisse bestätigen den positiven Effekt einer antioxidativen Therapie mit Selen. Sowohl Mortalität als auch Letalität konnten bei SIRS/Sepsis-Patienten reduziert werden (Angstwurm et al. 2007, Berger et al. 2007).

Zusammenfassend kann sowohl durch unsere tierexperimentelle Ergebnisse als auch anhand klinischer Studien der Effekt einer Natriumselenit-Substitution bei inflammatorischen Reaktionen, wie der Pankreatitis oder SIRS und Sepsis, belegt werden. Trotzdem sollte eine antioxidative Therapie nicht unkritisch erfolgen, wünschenswert wären weitere experimentelle und klinische Studien hinsichtlich Toxizität, Dosisfindung und Wirkungsmechanismus sowie die Fokussierung auf weitere Krankheitsbilder, die einer Selentherapie zugänglich gemacht werden könnten.

5. Zusammenfassung

Seit Anfang der 90er Jahre wird ein Zusammenhang zwischen der Induktion der Pankreatitis und einer Imbalance des antioxidativen Schutzsystems des Organismus gesehen, welcher in vielfältigen klinischen Studien untersucht wurde. Als einer der ersten Autoren beschrieb Kuklinski et al. die akute Pankreatitis als eine „Free Radical Disease“, die aufgrund erhöhten oxidativen Stresses durch vermehrten Anfall freier Sauerstoffradikale die antioxidative Kapazität des Organismus überschreitet. Der Autor verwies auf eine Antioxidantientherapie mit Natriumselenit mit dem Ergebnis einer deutlichen Reduktion der Letalitätsraten bei Patienten mit akuter Pankreatitis unterschiedlichster Genese (Kuklinski et al. 1991, 1992, 1995).

Das Spurenelement Selen, das die Aktivität der Glutathionperoxidase als Redoxsystem der Zelle entscheidend zu beeinflussen vermag, wurde daraufhin durch zahlreiche Arbeitsgruppen hinsichtlich der therapeutischen Effektivität untersucht. Bei verminderten Serumselenspiegeln und einer reduzierten Glutathionperoxidaseaktivität in der Initialphase inflammatorischer Reaktionen, wie zum Beispiel der akuten Pankreatitis, konnte sowohl durch teilweise signifikante Senkung des Malondialdehyd (MDA), als Indikator oxidativen Stresses, als auch vermehrte Synthetisierung der Glutathionperoxidase durch Selen dessen therapeutisches Potenzial als Antioxidans herausgestellt werden.

Mit vorliegender Arbeit soll in tierexperimentellen Versuchen der Einfluss von Selen auf die Entwicklung und den Verlauf akuter und chronischer Pankreatitiden an Ratten untersucht werden. Dazu wurde mittels der Organozinnverbindung Dibutylzinnchlorid (DBTC) eine akute beziehungsweise chronische Pankreatitis an der Ratte durch einmalige intravenöse Applikation von 6 mg/kg KG DBTC induziert.

Auf Grund einer direkten Zytotoxizität resultiert eine Schädigung der Pankreasazinuszellen sowie im Rahmen der biliären Exkretion des DBTC eine Nekrose der Gallengangsepithelien mit Entstehung von Zelldebris und konsekutiver Cholestase mit DBTC-haltigem Gallereflux in Pankreas und Leber. Beide Pathomechanismen bedingen eine akute interstitielle Pankreatitis an der Ratte, die ohne therapeutische Intervention chronifizieren kann. Sowohl makroskopisch als auch histologisch war bereits 4 Tage nach DBTC-Applikation eine akute Pankreatitis

belegbar, die im Verlauf von 3-4 Wochen chronifizierte. Serochemische Untersuchungen bestätigten die inflammatorischen Reaktionen am Pankreas. Messbar waren erhöhte Enzymaktivitäten der Amylase und Lipase als Ausdruck der akuten Pankreatitis. Erhöhte Aktivitäten von Transaminasen und AP sowie erhöhte Serumkonzentrationen des Bilirubins werteten wir als Kennzeichen einer Cholestase und Leberparenchymschädigung. Erhöhte Malondialdehydserumspiegel dienten als Indikator oxidativen Stresses, eine Elevation der Hyaluronsäurekonzentration im Serum deuteten wir als Korrelat einer Chronifizierung der DBTC-Pankreatitis an der Ratte.

Um den Einfluss wiederholter therapeutischer oraler Natriumselenit-Applikationen zu untersuchen, verabreichten wir in 3 Versuchsgruppen (DBTC + Natriumselenit) nach Induktion einer DBTC-Pankreatitis Natriumselenit in verschiedenen Dosierungen (0,3 mg/kg KG, 1,0 mg/kg KG und 5,0 mg/kg KG p.o.). Als Vergleichsgruppe dienten Versuchstiere, denen Natriumselenit allein und in gleicher Dosierung wie in den Kombinationsgruppen (DBTC + Natriumselenit) appliziert wurde. Eine Kontrollgruppe erhielt ein Lösungsgemisch aus Ethanol und Glycerol. Der Zeitraum des tierexperimentellen Versuches war auf 28 Tage begrenzt.

Die Resultate dieser Untersuchungen stellen heraus, dass eine Natriumselenit-Applikation in Abhängigkeit von der Dosis signifikante Reduktionen klinischer, paraklinischer und pathomorphologischer Parameter der akuten und chronischen DBTC induzierten Pankreatitis an der Ratte hervorruft.

Eine tägliche therapeutische orale Applikation von 0,3 mg/kg KG Natriumselenit zeigte dabei den geringsten Effekt auf die Reduktion der pathobiochemischen Parameter. Die Lipaseaktivität wurde am 28. Tag nach Versuchsbeginn signifikant reduziert, die Transaminasen sowie Bilirubin nahezu über den gesamten Beobachtungszeitraum. Ebenso war eine signifikante Senkung der Chronifizierungsrate der akuten Pankreatitis belegbar, die anhand der Reduktion der Hyaluronsäurekonzentrationen im Serum postuliert werden kann. Makroskopisch und histologisch bot sich nur eine diskrete Verringerung des Schweregrades der DBTC-Pankreatitis.

Bei Gabe von 1,0 mg/kg KG Natriumselenit täglich p.o. konnten teilweise tendenziell aber auch teilweise signifikant gesenkte pathobiochemische Parameter gemessen werden. Makroskopisch und mikroskopisch stellte sich eine milder verlaufende

Pankreatitis dar, verglichen mit den Versuchstieren, die allein mit DBTC behandelt wurden und der Kombinationsgruppe, der DBTC und 0,3 mg/kg KG Natriumselenit verabreicht wurde.

Den stärksten Effekt auf die DBTC-Pankreatitis zeigte eine orale Natriumselenit-Applikation von 5,0 mg/kg KG. Sowohl histologisch als auch makroskopisch waren nur marginale inflammatorische Reaktionen am Pankreas objektivierbar, eine Chronifizierung konnte nicht beobachtet werden. Alle pathobiochemischen Parameter wurden nahezu über den gesamten Versuchszeitraum signifikant reduziert gemessen. Die Lipaseaktivität wurde 2, 7, 14 und 28 Tage nach Induktion einer Pankreatitis signifikant gesenkt, Bilirubinkonzentrationen und Transaminasenaktivitäten über den gesamten Versuchszeitraum. Signifikant reduzierte Malondialdehydserumspiegel nach 2 und 4 h werteten wir als Ausdruck verminderten oxidativen Stresses in der Induktionsphase der akuten Pankreatitis nach DBTC-Applikation.

In Folge dieser Resultate gingen wir in einer weiterführenden tierexperimentellen Versuchsreihe der Frage nach, ob eine prophylaktische Natriumselenit-Applikation über 7 Tage mit nachfolgender Induktion einer Pankreatitis durch DBTC gleichwertige Effekte verursacht. Dies wäre zum Beispiel bei elektiven Interventionen wie einer ERCP oder bei Patienten, die einem hohem oxidativen Stress ausgesetzt sind, zum Beispiel im Rahmen chronischer Pankreatitiden mit Neigung zu rezidivierenden akuten Schüben, von Bedeutung.

In unserem Versuchsansatz erhielten Ratten über 7 Tage Natriumselenit täglich in einer Dosierung von 5,0 mg/kg KG oral. Am 7. Tag induzierten wir eine akute Pankreatitis durch einmalige intravenöse Applikation von 6 mg/kg KG DBTC. Von diesem Tag an betrug der Versuchszeitraum 28 Tage. Zur Evaluierung der Pankreatitis bedienten wir uns der gleichen Methodik wie in der vorangegangenen Versuchsreihe.

Im Ergebnis der Versuche ließen sich in der makroskopischen und histologischen Aufarbeitung nur diskrete Pathologien an den präparierten Organen der Versuchstiere, die prophylaktisch Natriumselenit und anschließend DBTC erhielten, erkennen.

Im Gegensatz zu allein mit DBTC behandelten Tieren verhinderte eine prophylaktische Natriumselenit-Supplementierung den schweren Verlauf der akuten DBTC-Pankreatitis an der Ratte und verringerte das Risiko der Konversion in die chronische Verlaufsform. Die pathobiochemischen Parameter verdeutlichen diese Aussagen. Die Pankreatitis-

spezifische Lipaseaktivität wurde zu allen Messzeitpunkten in der Kombinationsgruppe (Natriumselenit + DBTC) nach 1, 2 und 7 Tagen signifikant gesenkt, verglichen mit der DBTC-Gruppe. Ebenfalls die Cholestaseparameter wurden positiv beeinflusst. Die Bilirubinkonzentrationen wurden über den gesamten Versuchszeitraum signifikant gesenkt, die Aktivität der Alkalischen Phosphatase 7, 14 und 28 Tage nach DBTC-Injektion. Eine ausgeprägte Leberparenchymschädigung konnte gleichfalls durch prophylaktische Natriumselenit-Applikationen vermieden werden, belegbar durch signifikant reduzierte Transaminasenaktivitäten über den gesamten Versuchszeitraum. Als Zeichen verminderten oxidativen Stresses stellten sich signifikant erniedrigte Serumkonzentrationen des Malondialdehyd 2, 4 und 24 h nach DBTC-Applikation dar.

Im Vergleich zur therapeutischen Verabreichung von Natriumselenit nach DBTC-Applikation erscheint die prophylaktische Natriumselenit-Applikation pathomorphologisch ebenso effektiv. Die signifikant gesenkten Serumkonzentrationen von Bilirubin und Malondialdehyd sowie die reduzierte Aktivität der Lipase konnten jedoch früher im Versuchsablauf nachgewiesen werden. Damit könnte die Entstehung und Chronifizierung der DBTC-Pankreatitis an der Ratte durch prophylaktische Sengelaben bereits in ihrer Initialphase positiv beeinflusst werden. Somit kann ein Vorteil der prophylaktischen Natriumselenit-Applikation gegenüber der Selengabe nach Auslösung der DBTC-Pankreatitis postuliert werden.

Von Bedeutung sind die verschiedenen Wirkungsmechanismen, die diese Effekte begründen. Zum einen induziert Selen die Neusynthese der Glutathionperoxidase und stimuliert deren Aktivität, sodass das antioxidative Potential der Zellen im Organismus zunimmt. Infolgedessen könnte die durch freie Sauerstoffradikale getriggerte inflammatorische Reaktion abgemildert werden. Ein anderer Wirkungsansatz erklärt sich aus molekulargenetischer Sicht. Durch die Supplementierung mit Natriumselenit werden redoxsensitive Transkriptionsfaktoren beeinflusst, die eine Synthese pro- und antiinflammatorischer Enzyme katalysieren und nachfolgende Entzündungskaskaden inhibieren. Weiterhin kristallisierte sich in unseren Studien heraus, dass die Exkretion des DBTC als Induktor der Pankreatitis entscheidend durch Selen verändert werden könnte. Durch Interaktion beider Substanzen scheint die Elimination des toxischen Agens beschleunigt, so dass dessen Toxizität minimiert wird. Diese Hypothese wird

durch erhöhte Zinnkonzentrationen in Galle und Urin der Versuchstiere nach Selen-Applikation gestützt.

Wie neuere Studienergebnisse bestätigen, wäre eine Therapie mit Selen auch bei anderen Krankheitsbildern denkbar. Sowohl Mortalität als auch Letalität konnten beispielsweise bei SIRS- und Sepsis-Patienten durch eine Natriumselenit-Applikation reduziert werden (Angstwurm et al. 2007, Berger et al. 2007).

In Anbetracht der Resultate unterstreicht vorliegende Arbeit die Notwendigkeit weiterführender klinischer Studien, um die durch zahlreiche Publikationen und unsere tierexperimentellen Versuche belegte Effektivität einer antioxidativen Therapie mit Natriumselenit am Patienten zu sichern. Im Ausblick könnte sich die Verwendung des Spurenelements Selen auch in weiteren Bereichen der medizinischen Therapie durchsetzen. Die kontrovers diskutierten Veröffentlichungen zum Thema „Free Radical Disease“ belegen das Interesse an der Erschließung neuer Therapieoptionen.

6. Anhang

Tabellen

Versuchsreihe 1

Amylase (U/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation				
		1 d	2 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	2306,5 ± 225,5	3517,5 ± 227,6	3066,0 ± 493,2	2824,5 ± 407,4	3087,0 ± 371,7
2	a) Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	3153,5 ± 61,0	3146,5 ± 123,1	3556,0 ± 158,3	3048,5 ± 64,3	2488,5 ± 144,8
	b) Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	2957,8 ± 139,5	4196,5 ± 235,8	3787,0 ± 295,5	3244,5 ± 245,2	3542,0 ± 195,8
	c) Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	2798,0 ± 85,0	2716,8 ± 77,6	2947,5 ± 33,1	2876,8 ± 133,2	3069,8 ± 25,4
3	a) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	2215,5 ± 125,3	3395,0 ± 193,3	3405,5 ± 162,5	2838,5 ± 175,7	1916,3 ± 376,9
	b) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	2642,5 ± 171,0	3556,0 ± 179,0	2964,5 ± 149,8	3174,5 ± 173,2	3192,0 ± 55,6
	c) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	10598,2 ± 9029,2	7368,3 ± 4605,2	5192,3 ± 2590,8	3500,5 ± 1139,7	2487,3 ± 298,5
4	Ethanol / Glycerol	2912,5 ± 86,8	2874,0 ± 58,1	2916,7 ± 59,0	3576,0 ± 161,1	3668,5 ± 133,1

Tabelle 1:

Serumkonzentration von **Amylase** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Lipase (U/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation				
		1 d	2 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	89,7 ± 28,4	448,6 ± 113,8	488,5 ± 200,2	78,9 ± 26,1	27,2 ± 5,3
2	a) Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	10,0 ± 1,1	9,8 ± 0,6	8,3 ± 0,2	8,8 ± 0,3	9,4 ± 1,3
	b) Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	8,6 ± 0,4	8,2 ± 0,5	8,2 ± 0,1	9,2 ± 0,4	8,6 ± 1,4
	c) Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	8,2 ± 0,5	6,8 ± 0,6	7,2 ± 0,5	8,6 ± 1,3	9,0 ± 0,5
3	a) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	33,4 ± 6,7	260,8 ± 154,4	89,8 ± 54,5	26,9 ± 17,0	9,2 ± 0,6*
	b) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	31,4 ± 4,3	441,0 ± 430,0	48,9 ± 39,6	35,2 ± 7,6	9,8 ± 2,4*
	c) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	56,7 ± 36,1	85,3 ± 32,1*	14,7 ± 4,8*	10,8 ± 2,4*	9,2 ± 1,3*
4	Ethanol / Glycerol	4,2 ± 0,9	5,0 ± 1,0	4,7 ± 0,9	5,5 ± 0,8	5,7 ± 1,1

Tabelle 2:

Serumkonzentration von **Lipase** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Alkalische Phosphatase (U/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		4 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	526,7 ± 18	706,0 ± 52,8	657,5 ± 28,6	650,7 ± 22,7
2	a) Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	1580,7 ± 37,9	1469,0 ± 42,9	1531,3 ± 29,1	1153,7 ± 29,1
	b) Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	1439,0 ± 54,2	1265,7 ± 35,1	1345,3 ± 33,5	1024,3 ± 30,7
	c) Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	407,2 ± 11,9	414,5 ± 5,3	382,8 ± 5,6	351,5 ± 7,6
3	a) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	1402,7 ± 41,9	1927,8 ± 209	1515,5 ± 123,3	2069,3 ± 628
	b) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	1482,0 ± 74,2	1505,3 ± 139	1552,0 ± 109	1020,8 ± 28,8
	c) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	621,0 ± 54	502,7 ± 66,5*	479,7 ± 37*	437,8 ± 0,3*
4	Ethanol / Glycerol	388,8 ± 9,8	393,0 ± 12,5	411,7 ± 14,5	414,3 ± 17,8

Tabelle 3:

Serumkonzentration von **AP** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Bilirubin (µmol/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		4 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	40,3 ± 6,7	86,0 ± 9,1	79,0 ± 8,6	61,7 ± 7,2
2	a) Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	5,4 ± 0,2	3,5 ± 0,9	5,2 ± 0,4	3,4 ± 0,6
	b) Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	5,5 ± 0,6	2,6 ± 0,4	5,3 ± 0,4	4,0 ± 0,5
	c) Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	6,2 ± 0,3	7,4 ± 0,3	6,3 ± 0,4	6,4 ± 0,2
3	a) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	13,2 ± 7,7*	44,9 ± 37,6	23,5 ± 8,5*	16,1 ± 4,6*
	b) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	22,6 ± 17,1	24,3 ± 13,8*	21,8 ± 17,7*	24,0 ± 18,8*
	c) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	8,0 ± 2,8*	28,1 ± 21,2*	12,2 ± 6,7*	9,7 ± 4,0*
4	Ethanol / Glycerol	5,2 ± 0,8	6,0 ± 0,7	5,7 ± 0,9	5,6 ± 0,8

Tabelle 4:

Serumkonzentration von **Bilirubin** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

ASAT (U/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		4 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	929,5 ± 109,5	888,0 ± 106,8	656,7 ± 84,5	613,7 ± 71,2
2	a) Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	96,8 ± 5,9	108,7 ± 8,0	102,5 ± 8,7	98,7 ± 6,6
	b) Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	98,8 ± 6,2	93,9 ± 5,2	83,2 ± 3,9	77,0 ± 4,3
	c) Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	92,6 ± 3,3	88,0 ± 3,9	79,8 ± 1,9	75,6 ± 3,7
3	a) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	336,1 ± 227,7*	283,0 ± 128,9*	184,3 ± 32,0*	440,8 ± 176,8
	b) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	312,7 ± 194,6*	166,5 ± 61,0*	109,2 ± 21,4*	142,3 ± 41,3*
	c) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	328,5 ± 209,3*	247,0 ± 95,4*	160,4 ± 56,5*	121,7 ± 7,3*
4	Ethanol / Glycerol	78,5 ± 2,2	85,5 ± 1,8	88,2 ± 3,4	88,8 ± 2,9

Tabelle 5:

Serumkonzentration von **ASAT** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

ALAT (U/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		4 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	355,7 ± 33,1	344,3 ± 26,0	320,0 ± 34,3	413,8 ± 51,3
2	a) Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	80,6 ± 1,9	76,9 ± 2,7	77,1 ± 2,1	72,7 ± 1,6
	b) Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	80,9 ± 1,9	70,9 ± 1,3	73,5 ± 1,7	72,4 ± 1,3
	c) Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	80,3 ± 1,8	70,6 ± 0,9	72,7 ± 1,5	72,2 ± 1,1
3	a) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	237,8 ± 138,8	156,4 ± 49,2*	113,4 ± 13,6*	173,3 ± 59,6*
	b) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	208,7 ± 112,4	130,6 ± 51,4*	77,2 ± 4,9*	80,4 ± 7,3*
	c) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	107,0 ± 25,1*	132,9 ± 64,3*	121,6 ± 39,6*	77,2 ± 5,3*
4	Ethanol / Glycerol	58,5 ± 1,3	58,8 ± 3,8	61,5 ± 4,5	63,2 ± 3,7

Tabelle 6:

Serumkonzentration von **ALAT** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Malondialdehyd (µmol/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		2 h	4 h	6 h	24 h
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	0,53 ± 0,10	0,35 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,17 ± 0,01
2	Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	0,23 ± 0,02	0,25 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,02
3	DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	0,23 ± 0,02*	0,19 ± 0,01*	0,25 ± 0,01	0,16 ± 0,02
4	Ethanol / Glycerol	0,23 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,20 ± 0,01

Tabelle 7:

Serumkonzentration von **MDA** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Hyaluronsäure (µg/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation		
		7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	193,9 ± 6,3	235,6 ± 12,2	343,2 ± 12,8
2	a) Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	100,2 ± 1,3	115,2 ± 2,7	98,2 ± 2,7
	b) Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	103,5 ± 1,4	103,7 ± 3,9	110,0 ± 3,8
3	a) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 0,3 mg/kg KG p.o.	143,6 ± 3,7*	173,4 ± 7,5*	267,0 ± 28,8*
	b) DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 1 mg/kg KG p.o.	119,7 ± 3,1*	116,8 ± 3,9*	114,9 ± 1,8*

Tabelle 8:

Serumkonzentration von **Hyaluronsäure** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit und DBTC + Natriumselenit
Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 5

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Zinn in der Galle (µg/g)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		1 h	2 h	3 h	4 h
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	119 ± 34	53 ± 13	20 ± 4	18 ± 1
2	Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	0,08 ± 0,03	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
3	DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	186 ± 6,9	60 ± 4,4	36,8 ± 1,7	25,6 ± 2,3

Tabelle 9:

Zinnkonzentration in der Galle nach Applikation von DBTC, Natriumselenit und DBTC + Natriumselenit
Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 5

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Zinn in Galle, Urin und Organen ($\mu\text{g/g}$)

Applikation		Zeit nach Applikation			
		4 h	4 d	7 d	28 d
DBTC 6 mg/kg KG i.v.	Galle	18 \pm 1	0,2 \pm 0,02	0,04 \pm 0,01	0,01 \pm 0
	Urin	0,38 \pm 0,13	0,23 \pm 0,09	0,1 \pm 0	0,01 \pm 0
	Pankreas	2,3 \pm 0,3	0,3 \pm 0	0,2 \pm 0,06	0,01 \pm 0
	Leber	12,6 \pm 2	1,6 \pm 0,3	1,2 \pm 0,05	0,01 \pm 0
	Thymus	0,9 \pm 0,1	0,5 \pm 0	0,26 \pm 0,1	0,01 \pm 0
Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	Galle	0,05 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,01 \pm 0
	Urin	0,1 \pm 0,04	0,07 \pm 0,03	0,06 \pm 0,03	0,01 \pm 0
	Pankreas	2,38 \pm 0,2	0,38 \pm 0,04	0,27 \pm 0,04	0,01 \pm 0
	Leber	11,9 \pm 0,8	1,9 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	0,01 \pm 0
	Thymus	0,98 \pm 0,1	0,63 \pm 0,04	0,33 \pm 0,04	0,01 \pm 0
DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5 mg/kg KG p.o.	Galle	25,6 \pm 2,3	1,07 \pm 0,08	0,08 \pm 0,03	0,02 \pm 0
	Urin	0,98 \pm 0,03	0,62 \pm 0,04	0,24 \pm 0,03	0,03 \pm 0
	Pankreas	1,63 \pm 0,13	0,42 \pm 0,13	0,07 \pm 0	0,07 \pm 0,04
	Leber	21,3 \pm 1,8	2,32 \pm 0,45	1,09 \pm 0,12	0,33 \pm 0,18
	Thymus	0,75 \pm 0,04	0,49 \pm 0,09	0,08 \pm 0,04	0,06 \pm 0,04

Tabelle 10:

Zinnkonzentration in Galle, Urin und Organen nach Applikation von DBTC, Natriumselenit und DBTC + Natriumselenit

Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; n= 5

* signifikanter Unterschied ($p < 0,05$); DBTC-Gruppe verglichen mit Kombinationsgruppe (DBTC + Na-Selenit)

Versuchsreihe 2**Lipase (U/l)**

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation		
		1 d	2 d	7d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	52,0 \pm 4,0	77,0 \pm 7,0	28,0 \pm 4,0
2	Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	8,5 0,4	6,3 \pm 0,3	7,2 0,5
3	DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	16,0 \pm 0,5*	18,0 \pm 2,0*	6,0 \pm 1,0*
4	Ethanol / Glycerol	4,2 \pm 0,9	5,0 \pm 1,0	4,7 \pm 0,9

Tabelle 11:

Serumkonzentration von **Lipase** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied ($p < 0,05$); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Alkalische Phosphatase (U/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		2 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	442 ± 18	688 ± 42	632 ± 21	594 ± 18
2	Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	380 ± 17	434 ± 25	380 ± 10	332 ± 8
3	DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	404 ± 12	408 ± 13*	387 ± 24*	398 ± 23*
4	Ethanol / Glycerol	399 ± 6	393 ± 13	411,7 ± 15	414,3 ± 18

Tabelle 12:

Serumkonzentration von **AP** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Bilirubin (µmol/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		2 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	15 ± 0,5	114 ± 11	92 ± 8	97 ± 5
2	Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	6,5 ± 0,2	7,2 ± 0,1	5,8 ± 0,2	6,7 ± 0,1
3	DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	6,2 ± 0,5*	8,1 ± 0,7*	6,5 ± 0,4*	5,3 ± 0,5*
4	Ethanol / Glycerol	4,8 ± 0,8	6,0 ± 0,7	5,7 ± 0,9	5,6 ± 0,8

Tabelle 13:

Serumkonzentration von **Bilirubin** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

ASAT (U/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		2 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	380 ± 28	715 ± 43	688 ± 32	594 ± 46
2	Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	87 ± 3	104 ± 2	92 ± 1	94 ± 2
3	DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	106 ± 9*	111 ± 4*	186 ± 11*	103 ± 0,3*
4	Ethanol / Glycerol	79,5 ± 4,6	85,5 ± 1,8	88,2 ± 3,4	88,8 ± 2,9

Tabelle 14:

Serumkonzentration von **ASAT** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

ALAT (U/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		2 d	7 d	14 d	28 d
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	168 ± 19	236 ± 11	264 ± 21	244 ± 9
2	Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	60 ± 2	54 ± 3	51 ± 4	58 ± 6
3	DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	51 ± 3*	55 ± 1*	62 ± 2*	60 ± 3*
4	Ethanol / Glycerol	61,0 ± 1,7	58,8 ± 3,8	61,5 ± 4,5	63,2 ± 3,7

Tabelle 15:

Serumkonzentration von **ALAT** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

Malondialdehyd (µmol/l)

Versuchsgruppe	Applikation	Zeit nach Applikation			
		1 h	2 h	4 h	24 h
1	DBTC 6 mg/kg KG i.v.	0,51 ± 0,06	0,39 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,23 ± 0,01
2	Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	0,17 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,20 ± 0,01
3	DBTC 6 mg/kg KG i.v. + Na-Se 5,0 mg/kg KG p.o.	0,47 ± 0,02	0,33 ± 0,01*	0,22 ± 0,01*	0,15 ± 0,01*
4	Ethanol / Glycerol	0,21 ± 0,02	0,23 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,20 ± 0,01

Tabelle 16:

Serumkonzentration von **MDA** nach Applikation von DBTC, Natriumselenit, DBTC + Natriumselenit und Ethanol / Glycerol

Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes; n= 6

* signifikanter Unterschied (p < 0,05); Versuchsgruppe 1 verglichen mit Versuchsgruppe 3

7. Literaturverzeichnis

Adler G, Hupp T, Kern HF. Course of spontaneous regression of acute pancreatitis in the rat. *Virchows Archiv A Pathol Anat Histol* 1979; 382: 31-47

Adler G, Kern HF. Fine structure and biochemical studies in human acute pancreatitis. In: Gyr KE, Singer MV, Sarles H, eds. *Pankreatitis*; Amsterdam, Excerpta Medica 1984; 37-42

Aho HJ, Nevalainen TJ, Havia VT, Heinonen RJ. Human acute pancreatitis. *Microbiol Immunol Scand (A)* 1982; 90: 367-373

Aldermann LC, Bergin JJ. Hydrogen selenide poisoning: an illustrative case with review of the literature. *Arch Environm Health* 1986; 41: 354-358

Alfthan G, Aro H, Arvilommi J, Huttunen K. Selenium metabolism and platelet glutathione peroxidase activity in healthy Finnish men: effects of selenium yeast, selenite, and selenate. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 120-125

Anderson MC, Needleman SB, Gramatica L, Toronto IR, Briggs DR. Further inquiries into the role of pancreatic enzymes in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Arch Surg* 1969; 99: 185

Angstwurm MW, Schottdorf J, Schopohl J, Gärtner R. Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Crit Care Med* 1999; 27(9): 1807-1813

Angstwurm MW, Engelmann L, Zimmermann T, Lehmann C, Spes CH, Abel P, Strauss R, Meier-Hellmann A, Insel R, Radke J, Schuttler J, Gärtner R. Selenium in Intensive Care (SIC): results of a prospective randomized, placebo-controlled, multiple-center study in patients with severe systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and septic shock. *Crit Care Med* 2007; 35(1): 118-126

Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *New Engl J Med* 1978; 298: 659-668

Beck IT, Kahn DS, Solyniar J. The role of proteolytic enzymes in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1964; 46: 531-542

Behne D, Kyriakopoulos A. Neue Selenoproteine. *Med Klinik* 1995; 90(I): 5-7

Berger MM, Chioloro RL. Antioxidant supplementation in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2007; 35(9): 584-590

Birk D, Schoenberg MH, Eisele S, Mbock A, Rau B, Beger HG. Die Bedeutung der Sauerstoffradikale bei akuter Pankreatitis. Klinische und experimentelle Ergebnisse der Radikalfängertherapie. *Med Klin* 1995; 90(I): 32-35

Björk J, Arfors KE. Oxygen radicals and leucotrienes B4 induced increase in vascular leakage by PMN-leukocytes. *Agents and Actions* 1984; 11: 63-73

Bordalo O, Goncalves D, Noronha M. Newer concept for the pathogenesis of chronic alcoholic pancreatitis. *Amer J Gastroent* 1977; 68: 278-285

Braganza JM, Holmes AM, Morton AR, Stalley L, Ku R, Kishen R. Acetylcystein to treat complications of pancreatitis. *Lancet* 1986; I: 914-915

- Braganza JM, Rinderknecht H. Free radicals and acute pancreatitis. *Gastroenterology* 1988; 94: 1111-1112
- Brian M. Sondermüll im Haus. *ÖKO-Test-Magazin* 2000; 5: 74-80
- Büchler MW, Uhl W, Malfertheiner P. Pankreaserkrankungen. Akute Pankreatitis, Chronische Pankreatitis, Tumore des Pankreas. S. Karger AG Verlag 1996
- Büchler MW, Uhl W, Malfertheiner P. Pankreaserkrankungen. Akute Pankreatitis, Chronische Pankreatitis, Tumore des Pankreas. S. Karger AG Verlag 2004
- Bulkley GB. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery* 1983; 94: 407-411
- Bundesgesundheitsamt. Monographien Natriumselenit und Selen, Stoffcharakteristik Selenhefe. *Dtsch Apoth Ztg* 1992; 132: 1731-1732
- Burton KP, Morris AC, Massey KD, Buja LM, Hagler HK. Free radicals after ionic calcium levels and membrane phospholipids in cultured rat ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1990; 22: 1035-1047
- Combs GF, Combs SB. The nutritional biochemistry of selenium. *Ann Rev Nutr* 1984; 4: 257-280
- Creutzfeld W. Pathophysiologie des endokrinen Pankreas. *Verh Dtsch Ges Path* 1987; 71: 16
- de las Heras-Castãno G, Garcia-Unzueta MT, Dominguez-Diez A, Fernandez-Gonzalez MD, Garcia-de la Paz AM, Mayorga-Fernandez M, Fernandez-Fernandez F. Pancreatic Fibrosis in Rats and Its Response to Antioxidant Treatment. *J Pancreas* 2005; 6(4): 316-324
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung. Ernährungsbericht 1984. Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Frankfurt 1984
- Emanuelli G, Tappero G, Juliano R, Dughera L, Gaia E. Antitissue antibodies in chronic pancreatitis. *Digestion* 1989; 44: 79-85
- Emmrich J, Weber I, Nausch M, Sparmann G, Koch K, Seyfahrt M, Löhr M, Liebe S. Immunohistochemical characterization of the pancreatic cellular infiltrate in normal pancreas, chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma. *Digestion* 1998; 59: 192-198
- Fan AM, Kizer KW. Selenium, nutritional, toxicology and clinical aspects. *West J med* 1990; 153: 160-167
- Flohe L. The selenoprotein glutathione peroxidase. In: Dophin D, Poulson R, Avramovic O eds. *Glutathione. Chemical, biochemical, and medical aspects – Part A*. John Wiley & Sons, Chichester-New York 1989; 643-731
- Flohe L. Selen im Peroxidstoffwechsel. *Med Klin* 1997; 92(III): 5-7
- Forceville X, Vitoux D. *Selenium et Sepsis*. Elsevier 1999
- Freese EB, Greshon J, Taber H. Inactivating DNA alteration induced by peroxides and peroxide producing agents. *Mutant Res* 1967; 4: 517-531
- Gärtner R, Angstwurm MWA, Schottdorf J. Selensubstitution bei Sepsispatienten. *Med Klin* 1997; 92(III): 12-14

- Geokas MC, Rinderknecht H, Swanson V, Haverbeck BJ. Role of elastase in acute hemorrhagic pancreatitis. *Lab Invest* 1969; 19: 235
- Gielen M, Willem R, Bouhdid A, De Vos D, Kuiper CM, Veerman G, Peters GJ. In vitro antiproliferative effects, toxicity profiles in vivo in mice and antitumor activity in tumor-bearing mice of five organotin compounds. *In Vivo* 1995; 9: 59-63
- Gies A, Stewen U, Kuballa J: Wissenschaftliche Bestandsaufnahme. Symposium zu TBT und anderen zinnorganischen Verbindungen. *Zeitschrift für Umweltmedizin. Studien, Reports und Informationen für Wissenschaft und Praxis* 2000; 3: 142-148
- Görl N, Lemke M, Weber H, Berg A, Hennighausen G, Merkord J. Influence of daily oral Selenium Treatment on the development of Dibutyltin Dichloride-induced pancreatitis in Rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2006; 370: 99
- Görl N, Lembke M, Weber H, Berg A, Merkord J. Influence of Daily Oral Prophylactic Selenium Treatment on DBTC-Induced Pancreatitis in Rats. *Abstractband EPC Newcastle* 2007; P28
- Gramm HJ, Kopf A, Brätter P. Zur ernährungsphysiologischen Bedeutung des Spurenelements Selen im Rahmen parenteraler Ernährungstherapien. *Med Klin* 1995; 90(I): 10-15
- Gukovskaya AS, Perkins P, Zaninovic V, Sandoval D, Rutherford R, Fitzsimmons T, Pandolfi SJ, Poucell-Hatton S. Mechanisms of cell death after pancreatic duct obstruction in the opossum and the rat. *Gastroenterology* 1996; 110: 875-884
- Guyan PM, Uden S, Braganza JM. Heightened free radical activity in pancreatitis. *Free Radical Biol Med* 1990; 98: 766-772
- Hardman J, Jamdar S, Shields C, McMahon R, Redmond HP, Siriwardena AK. Intravenous selenium modulates L-Arginine-induced experimental acute pancreatitis. *JOP* 2005; 6(5): 431-437
- Hartfiel W, Bahnert N. Selenmangel in der Bundesrepublik Deutschland. *VitaMinSpur* 1987; 2: 125-131
- Hennighausen G, Lange P, Merkord J. The relationship between the length of alkyl chain of dialkyltin compounds and their effects on thymus and bile ducts in mice. *Arch Toxicol Suppl* 1980; 4: 175-178
- Hennighausen G, Krause HJ, Karnstedt U, Merkord J. Untersuchung zur Verteilung und Elimination von Organozinn bei Ratten nach einmaliger i.v. Gabe von Di-n-alkylzinn-dichloriden. *Zent bl Pharm Pharmakother Lab-diagn* 1983; 122: 162-163
- Hennighausen G, Szymaniec S. Selectivity of antiproliferative effects of dialkyltin compounds in vitro and in vivo. *NATO ASI Series* 1990; 37: 191-200
- Högberg J, Alexander J. Selenium. In: Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB eds. *Handbook on the Toxicology of Metals, Vol II*. Elsevier 1990
- Horiuchi A, Kaneko T, Yamamura N, Nagata A, Nakamura T, Akamatsu T, Mukawa K, Kawa S, Kiosawa K. Autoimmune chronic pancreatitis simulating pancreatic lymphoma. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 2607-2609
- Hunger RE, Müller C, Z'Graggen K, Friess H, Büchler MW. Cytotoxic cells are activated in cellular infiltrates of alcoholic pancreatitis. *Gastroenterology* 1997; 112: 1656-1663

- Isensee J, Watermann B, Berger HD. Emissions of antifouling-biocides into the North Sea – an Estimation. *Deutsche Hydrographische Zeitschrift* 1994; 46: 355-366
- Ito T, Nakano I, Koyanagi S, Miyahara T, Migita Y, Ogoshi K, Sakai H, Matsunaga S, Yasuda O, Sumii T, Nawata H. Autoimmune pancreatitis as a new clinical entity. Three cases of autoimmune pancreatitis with effective steroid therapy. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1458-1468
- Johannson E, Plantin LO, Galgan V, Westermarck T, Nordberg UR. Comparison of human response to low doses of inorganic and organic selenium. In: Wendel A eds. *Selenium in Biology and Medicine*, Springer 1988: 258-262
- Johnsson C, Hallgren R, Tufveson G. Role of hyaluronan in acute pancreatitis. *Surgery* 2000; 127(6): 659-660
- Kappas A, Drummond GS. Control of heme and cytochrome P-450 metabolism in inorganic metals, organometals and synthetic metalloporphyrins. *Environ Health Perspect* 1984; 57: 301-306
- Kimmel EC, Fish RH, Casida JE: Bioorganotin chemistry. Metabolism of organotin compounds in microsomal monooxygenase system and in mammals. *Agr Foad Chem* 1977; 25: 1-9.
- Kimura W, Meyer F, Hess D, Kirchner T, Fischbach W, Mössner J. Comparison of different treatment modalities in experimental pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 1992; 103: 1916-1924
- Kirk GR, White JS, McKie L, Stevenson M, Young I, Clements WD, Rowlands BJ. Combined antioxidant therapy reduces pain and improves quality of life in chronic pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2006; 10(4): 499-503
- Klöppel G, Maillet B. The morphological basis for the evolution of acute pancreatitis into chronic pancreatitis. *Virchows Archiv* 1992; 420: 1-4
- Klöppel G, Maillet B. Pathology of acute and chronic pancreatitis. *Pancreas* 1993; 8: 659-670
- Kowai T, Oguchi H, Kawa S, Yanagisawa Y, Kobayashi T, Homma T. The role of oxygen free radicals in experimental acute pancreatitis in the rat. *Int J Pancreatol* 1989; 5: 135-143
- Kuklinski B, Buchner M, Schweder R, Nagel R. Akute Pankreatitis – eine „Free Radical Disease“. Letalitätssenkung durch Natriumselenit (Na_2SeO_3)-Therapie. *Z gesamte Inn Med* 1991; 46: 145-149
- Kuklinski B, Buchner M, Müller T, Schweder R. Antioxidative Therapie der Pankreatitis – eine 18 monatige Zwischenbilanz. *Z gesamte Inn Med* 1992; 47: 239-245
- Kuklinski B, Zimmermann T, Schweder R. Letalitätssenkung der akuten Pankreatitis mit Natriumselenit. Klinische Resultate einer vierjährigen Antioxidanzientherapie. *Med Klinik* 1995; 90 (I): 36-41
- Lampel M, Kern HF. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1977; 373: 97-117
- Lankisch PG, Ihse I. Bile-induced acute experimental pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22: 257-260

- Laryea MD, Jiang YF, Xu GL, Frosch I, Lombeck I. Low selenium state and increased eruric acid in children from Keshan endemic areas – a pilot study. In: Wendel A eds. Selenium in Biology and Medicine. Springer Verlag 1988; 277-280
- Lemke M, Görl N, Berg A, Weber H, Hennighausen G, Merkord J. Influence of Selenium Treatment on the Acute Toxicity of Dibutyltin Dichloride in Rats. *Pancreatology* 2006; 6(5): 486-496
- Lerch MM, Saluja AK, Rünzi M, Dawra R, Saluja M, Steer ML. Pancreatic duct obstruction triggers acute necrotizing pancreatitis in the opossum. *Gastroenterology* 1993; 104: 853-861
- Lerch MM, Weidenbach H, Hernandez CA, Preclik G, Adler G. Pancreatic outflow obstruction as the critical event for human gallstone-induced pancreatitis. *Gut* 1994; 35: 1501-1503
- Leslie CC, Channon JY. Anionic phospholipids stimulate an arachidonoyl-hydrolyzing phospholipase A₂ from macrophages and reduce the calcium requirement for activity. *Biochim Biophys* 1990; *Acta* 1045: 261-270
- Li FS, Bai ZC, Liu GL, Cheng BR. The pathogeny of Keshan-Beck disease – a comprehensive ecologic effect of endemic ares. *J Ecol* 1984; 14: 10-14
- Liao YH, Jones SA, Forbes B, Martin GP, Brown MB. Hyaluronan: pharmaceutical characterization and drug delivery. *Drug Deliv* 2005; 12(6): 327-342
- Lindner D, Lindner J, Baumann G, Dawczynski H, Bauch K. Untersuchung zur antioxidativen Therapie mit Natriumselenit bei akuter Pankreatitis. *Medizinische Klinik* 2004; 99: 708-712
- Lombardi B, Estes LW, Longnecker DS. Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline-deficient diet. *Am J Pathol* 1975; 79: 465-480
- Marshall PJ, Kulmacz RJ, Lands WEM. Hydroperoxides, free radicals and prostaglandin synthesis. In: Bors W, Saran M, Tait D, eds. *Oxy-radicals in chemistry and biology*; Berlin, Walter de Gruyter Co, 1984; 299-303
- McCloy R. Chronic Pancreatitis at Manchester, UK. *Digestion* 1998; 59(4): 36-48
- Merkord J, Hennighausen G, Karnstedt U, Lange P. Die biliäre Exkretion von Organozinn bei der narkotisierten Ratte nach Gabe von Di-n-alkylzinndichloriden mit unterschiedlicher Länge der Alkylketten. *Pharmazie* 1982; 37: 146-147
- Merkord J. Toxische Wirkungen von Di-n-alkyl-zinndichloriden auf Gallengänge und Thymus bei Ratten und Mäusen. Beziehungen zwischen Struktur, toxischen Wirkungen und biliärer Exkretion. Dissertation 1982, Universität Rostock
- Merkord J, Hennighausen G, Karnstedt U. Die Beziehungen zwischen den toxischen Wirkungen der Di-n-alkylzinndichloride auf die Gallengänge und die biliäre Exkretion von Organozinn bei Ratte und Maus. *Zbl Pharm* 1983; 122: 161-162
- Merkord J, Hennighausen G. Acute pancreatitis and bile duct lesions in rat induced by dibutyltin dichloride. *Exp Pathol* 1989; 36: 59-62
- Merkord J, Jonas L, Hennighausen G. Morphological lesions of pancreas and bile ducts in rats induced by dibutyltin dichloride. *Arch Toxicol Suppl* 1991; 14: 75-79

- Merkord J, Jonas L, Weber H, Schröder H, Hennighausen G. Lesions of liver, pancreas and bile ducts in rats induced by dibutyltin dichloride (DBTC). In: Aspects on environmental toxicology. VP Kotsaki-Kovatsi et al. (eds.) Technika Studio, Thessaloniki, 1995; 301-306
- Merkord J: Gefahren im Umgang mit Fungiziden und Bioziden. *Restauro* 1994; 3: 170-73.
- Merkord J, Jonas L, Thurre G, Sparmann G, Hennighausen G. Effects of dibutyltin dichloride (DBTC) on rat bile duct epithelial cells, pancreatic acinus cells and fibroblasts in vivo and in vitro. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1997; 356: 241
- Merkord J, Jonas L, Weber H, Kröning G, Nizze H, Hennighausen G. Acute interstitial pancreatitis in rats induced by dibutyltin dichloride (DBTC): Pathogenesis and natural course of lesions. *Pancreas* 1997; 15: 392-401
- Merkord J, Weber H, Jonas L, Kröning G, Hennighausen G. The DBTC-induced pancreatitis: a new model for acute pancreatitis and pancreatic fibrosis in rats [abstract]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1998; 358 (2): 54.22
- Mössner J. Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse. In: Classen M, Diehl V, Kochsiek K eds. *Innere Medizin*. Urban & Fischer Verlag München, Jena 2004; 1369-1383
- Nonaka A, Manabe T, Tamura K, Asano N, Imanishi K, Tobe T. Changes of xanthine oxidase, lipid peroxides and superoxides dismutase in mouse acute pancreatitis. *Digestion* 1989; 43: 41-46
- Nonaka A, Manabe T, Kyogoku T, Tamura K, Tobe T. Changes in lipid peroxide and oxygen radical scavengers in Cerulein-induced acute pancreatitis. *Digestion* 1990; 47: 130-137
- Ohlson K, Eddeland A. Release of proteolytic enzymes in bile-induced pancreatitis in dogs. *Gastroenterology* 1985; 69: 668-675
- Olseon OE. Selenium toxicity in animals with emphasis on man. *J Americ Colleg Toxicol* 1986; 5: 45-69
- Oster S, Prellwitz W. Are germans selenium-deficient? In: Wendel A eds. *Selenium in Biology and Medicine*. Springer Verlag 1988; 229 ff
- Penninks AH, Seinen W. II. Toxicity of organotin compounds. Impairment of energy metabolism of rat thymocytes by various dialkyltin compounds. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 56: 221-231
- Penninks AH, Seinen W. Immunotoxicity of organotin compounds. *Immunotoxicology* 1983; 12: 427-436
- Penninks AH, Verschuren PM, Seinen W. Di-n-butyltin dichloride uncouples oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983; 70: 115-120
- Penninks AH, Hilgers L, Seinen W. The absorption, tissue distribution and excretion of di-n-octyltin dichloride in rats. *Toxicology* 1987; 44: 107-120
- Penninks AH, Pieters RH, Snoeij NJ, Seinen W. Organotin-induced thymus atrophy. In: *Thymus update*. (Hrsg.: Kendall MD) 1991; Vol. 4
- Pfeffer RB, Stasio O, Hinton JW. The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic pancreatitis in the dog. *Surg Forum* 1957; 8: 248-251

- Pieters RH, Bol M, Ariens T, Punt P, Seinen W, Bloksma N, Pennings AH. Selective inhibition of immature CD4-CD8+ thymocyte proliferation, but non differentiation, by the thymus atrophy-inducing compound di-n-butyltin dichloride. *Immunology* 1994; 81: 261-267
- Piver WT. Organotin Compounds: Industrial Applications and Biological Investigation. *Environmental Health Perspectives* 1973; 4: 61-80
- Potter SD, Matrone G. A Tissue Culture Model for Mercury-Selenium Interactions. *Toxicology and applied Pharmacology* 1977; 40: 201-215
- Rao KN, Tuma J, Lombardi B. Acute hemorrhagic pancreatic necrosis in mice. Intraparenchymal activation of zymogens and other enzyme changes in pancreas and serum. *Gastroenterology* 1976; 70: 720-726
- Rehnhof M, Kretzer U, Schurmeyer T, Skopnik H, Kemper FH. Toxicity of organotin compounds in chicken and rats. *Arch Toxicol Suppl* 1980; 4: 148-150
- Ross A. Industrial applications of organotin compounds. *Ann N.Y. Acad Sci* 1965; 125: 107
- Sakr Y, Reinhart K, Bloos F, Marx G, Russwurm S, Bauer M, Brunkhorst F. Time course and relationship between plasma selenium concentrations, systemic inflammatory response, sepsis, and multiorgan failure. *Br J Anaesth* 2007; 98(6): 775-784
- Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JL. The pathogenesis of acute pancreatitis: The source and role of oxygen-derived free radicals in three different experimental models. *Ann Surg* 1985; 201: 633-639
- Sanfey H, Bulkley GB, Cameron JL. The role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Ann Surg* 1984; 200: 405-413
- Sarles H, Lebreuil G. A comparisation of alcoholic pancreatitis in rat and man. *Gut* 1971; 12: 377-388
- Sarles H, Laugier R. Alcoholic pancreatitis. *Clin Gastroenterol* 1981; 10: 410-415
- Sarles H. Chronic pancreatitis: etiology and pathophysiology. In: Go VLW et al.: *The Exocrine Pancreas*. Raven, New York 1986; 527-540
- Sarles H. Definitions and classifications of pancreatitis. *Pancreas* 1991; 6: 470-474
- Schellmann B, Raithel HJ, Schaller KH. Acute fatal selenium poisoning. Toxicological and occupational medical aspects. *Arch Toxicol* 1986; 59: 61-63
- Schmidt H, Creutzfeld W. The possible role of phospholipase-A in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1969; 4: 39
- Schoenberg MH, Büchler M, Beger HG. Sauerstoffradikale und akute Pankreatitis. *Z Gastroenterol* 1992; 30: 801-807
- Schoenberg MH, Büchler M, Gaspar M, Bültmann B, Beger HG. The involvement of oxygen radicals in acute pancreatitis. *Gut* 1990; 31: 1138-1143
- Schoenberg MH, Büchler M, Kirchmayer R, Gaspar M, Beger HG. The involvement of oxygen radicals in acute pancreatitis. *Klin Wochenschr* 1991; 69: 1025-1032

- Schoenberg MH, Büchler M, Younes M, Kirchmayr R, Brückner UB, Beger HG. Effect of antioxidant treatment in rats with acute hemorrhagic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 1034-1040
- Schrauzer GN. Selen-natürlicher Schutzstoff bei Quecksilberbelastungen. *Ganzheitliche Zahnheilkunde in der Praxis* 1990; 1: 3-28.
- Schrauzer GN. Selen. Neue Entwicklungen aus Biologie, Biochemie und Medizin. Johann Ambrosius Barth Verlag Heidelberg, Leipzig 1998
- Schwarz K, Foltz CM. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Amer Chem Soc* 1957; 79: 3292-3293
- Seidel H. Bemerkungen zu meiner Methode der experimentellen Erzeugung der akuten haemorrhagischen Pankreatitis. *Zentralbl Chir* 1910; 37: 1601-1604
- Siegers CP, Richter B, Pentz R. Selensubstitution bei Selenmangel und Folgeerkrankungen. *Deutsches Ärzteblatt* 1994; 44: A:3032-3036, B: 2233-2237, C: 1927-1931
- Stocks J, Dormandy TL. The autooxidation of human red cell lipids induced by H₂O₂. *Br J Haematol* 1971; 20: 95-111
- Stoner HB, Barnes JM, Duff JJ. Studies on the toxicity of alkyltin compounds. *Br J Pharmacol* 1955; 10: 16-25
- Stopinski J, Stephan S, Fischer W, Staib I. Einfluß der Selengabe auf den Verlauf der akuten Pankreatitis. *Chir Praxis* 1994; 48: 433-439
- Sweiry JH, Mann GE. Role of oxidative stress in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Scand J Gastroent* 1996; 31 (219): 10-15
- Thomson CD, Robinson MF, Campbell DR, Rea HM. Effect of prolonged supplementation with daily supplements of selenomethionine and sodium selenite on glutathione peroxidase activity in blood of New Zealand residents. *Am J Clin Nutr* 1982, 36: 24-31
- Uden S, Main C, Hunt LP, Nathan L, Braganza JM. Placebo-controlled double-blind trial of antioxidant supplements in patients with recurrent pancreatitis. *Clin Sci* 1989; 77(21): 26-27
- Wenzel G, Kuklinski B, Rühlmann C, Ehrhardt D. Alkoholtoxische Hepatitis – eine „freie Radikale“- assoziierte Erkrankung. *Innere Medizin* 1993; 48: 490-496
- Wisner JR, Renner IG. Allopurinol attenuates caerulein induced acute pancreatitis in the rat. *Gut* 1988; 29: 926-929
- Wolffram S. Mechanismen der intestinalen Absorption von Selen. *Med Klin* 1995; 90(I): 1-5
- Wollschläger S, Ludwig K, Meißner D, Porst H. Einfluß einer Selensubstitution auf verschiedene Laborparameter bei Patienten mit akuter Pankreatitis. *Med Klin* 1997; 92(III): 22-24
- Wollschläger S, Pätzold K, Bulang T, Meißner D, Porst H. Einfluß einer prophylaktischen Selensubstitution auf die Entwicklung der ERCP-bedingten akuten Pankreatitis. *Med Klin* 1999; 94(III): 81-83
- Wu XQ, Ce XC, Zhou HF, Rao YW, Li AF, Zang WJ. The antagonistic effect of selenium on the toxicity of mercury. *Trace El Med* 1990; 7: 40-44

Xang G, Yin S, Zhon R, Gu L, Yan B, Lin Y. Studies of safe maximal daily dietary Se-intake in a seleniferous area in China. Part II: Relation between Se-intake and the manifestation of clinical signs and certain biochemical alterations in blood and urine. *J Trace Elem Electro Health Dis* 1989; 3: 123-130

Zelck U, Karnstedt U. Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Selen-Substitution bei entzündlichen Erkrankungen. Beeinflussung der Aktivität antioxidativer Enzyme bei Patienten mit akuter Pankreatitis. *Innere Medizin* 1993; 48: 78-81

Zimmermann T, Albrecht S, Kühne H, Vogelsang U, Grützmann R, Kopprasch S. Selensubstitution bei Sepsispatienten. Eine prospektiv randomisierte Studie. *Med Klin* 1997; 92(III): 3-4

Zimmermann T, Albrecht S, Hanke S, von Gagern G. Selen in der Intensivmedizin. *Chir Gastroenterologie* 2000; 16(1): 54-57

8. Thesen

1. Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss täglich oraler therapeutischer sowie prophylaktischer Applikationen von Selen auf die Entstehung und den Verlauf der Dibutylzinndichlorid (DBTC)-Pankreatitis an der Ratte zu untersuchen.
2. Die akute Pankreatitis ist eine „Free Radical Disease“, objektivierbar an erhöhten Malondialdehyd-Serumspiegeln im Krankheitsverlauf als Kennzeichen vermehrten oxidativen Stresses.
3. Dibutylzinndichlorid (DBTC), eine Organozinnverbindung, ist durch Verwendung in Industrie und Landwirtschaft von hohem toxikologischem Interesse.
4. DBTC intravenös verabreicht in einer Dosis von 6 mg/kg KG induziert in der Ratte eine akute bzw. chronische Pankreatitis, die sich sowohl serochemisch als auch mikro- und makroskopisch belegen lässt. Auf Grund einer direkten Zytotoxizität resultiert eine Schädigung der Pankreasazinuszellen, im Rahmen der biliären Exkretion eine Nekrose der Gallengangsepithelien mit Entstehung von Zelldebris und konsekutiver Cholestase.
5. Das Spurenelement Selen ist als integraler Bestandteil der Glutathionperoxidase ein entscheidender Faktor im antioxidativen Schutzsystem der Zelle. Die Glutathionperoxidaseaktivität kann durch Selen-Applikationen gesteigert werden.
6. Des Weiteren entfaltet Selen antioxidative Effekte durch Aktivierung und Inhibierung redoxsensitiver Transkriptionsfaktoren.
7. Die alleinige orale Natriumselenit-Applikation verursacht keine negativen Effekte bezüglich Paraklinik und Pathomorphologie an den Versuchstieren (Ratten).
8. In Abhängigkeit von der Dosis reduziert Natriumselenit die toxischen Wirkungen von DBTC auf Pankreas, Galle-Pankreasgang, Leber, Nieren, Milz und Thymus und senkt die Serumkonzentrationen beziehungsweise Enzymaktivitäten der gemessenen pathobiochemischen Parameter.

9. Natriumselenit hat in einer Dosierung von 0,3 mg/kg KG den geringsten Einfluss auf den Verlauf der akuten DBTC-Pankreatitis an der Ratte, wohingegen eine Dosis von 5 mg/kg KG den stärksten Effekt aufzeigte. Dies ließ sich anhand signifikant reduzierter Enzymaktivitäten (Amylase, Lipase, AP, ASAT, ALAT) sowie Serumkonzentrationen (Bilirubin, MDA) belegen. An den präparierten Organen (Pankreas, Leber, Milz, Nieren, Thymus, Galle-Pankreasgang) der Versuchstiere zeigten sich die pathomorphologischen Anomalien in geringster Ausprägung ebenfalls bei der Gabe von 5 mg/kg KG Natriumselenit.
10. Natriumselenit senkt signifikant die gemessenen Malondialdehyd-Serumkonzentrationen in der Induktionsphase der DBTC-Pankreatitis an der Ratte als Ausdruck reduzierten oxidativen Stresses. Folgen sind ein abgeschwächter akuter Krankheitsverlauf und ein gesenktes Risiko für den Übergang in die chronische Form der Pankreatitis.
11. Durch Natriumselenit signifikant gesenkte Hyaluronsäurekonzentrationen deuten auf eine verminderte Chronifizierung der durch DBTC induzierten akuten Pankreatitis hin.
12. Nach kombinierter Gabe von DBTC und Natriumselenit waren erhöhte Zinnkonzentrationen in Urin und Galle der Versuchstiere (Ratten) messbar. Dies könnte auf eine gesteigerte DBTC-Exkretion hindeuten, möglicherweise durch Interaktion von Selen mit DBTC. Die verstärkte Elimination des DBTC könnte die toxischen Wirkungen auf den Organismus der Ratte minimieren.
13. Eine prophylaktische Natriumselenit-Applikation über 7 Tage führt zu einem milderem Verlauf der DBTC induzierten Pankreatitis an der Ratte und könnte sich beispielsweise bei einer endoskopisch retrograden Cholangio-pankreatikografie (ERCP) im klinischen Alltag als sinnvoll erweisen.
14. Selen ist als antioxidatives Therapeutikum auch bei anderen Krankheitsbildern, die mit oxidativen Stress assoziiert sind, wie zum Beispiel SIRS und Sepsis, einsetzbar.

Danksagung

Mein Dank gilt insbesondere Frau Dr. med. habil. J. Merkord für die Überlassung des Themas, die wertvollen Anregungen und konstruktive Kritik sowie die hilfreiche und verständnisvolle Unterstützung und Betreuung dieser Arbeit.

Des Weiteren danke ich Herrn Prof. Dr. med. habil. G. Hennighausen für seine kompetenten wissenschaftlichen Vorschläge beim Erstellen und Verfassen vorliegender Dissertation.

Ebenfalls erwähnen möchte ich die Mitarbeiter des Instituts für Toxikologie, vor allem Frau Kleinfeld, Frau Berg und Frau Rohde, deren tatkräftige Hilfe und Zusammenarbeit meinen Dank verdienen.

Auch meiner Familie und meinen Freunden gilt besonderer Dank für ihre Unterstützung und ihr Verständnis.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche gekennzeichnet habe.

Rostock, April 2008

Norman Görl

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Norman Görl
Geburtsdatum	25.08.1978
Geburtsort	Ostseebad Kühlungsborn
Familienstand	ledig

Schul- und Berufsausbildung

Grundschule und Gymnasium in Rostock	09/85 – 06/97 Abschluss: Abitur
Zivildienst	09/97 – 08/98 Klinikum Südstadt Rostock
Ausbildung zum Bankkaufmann	08/98 – 06/00 Deutsche Bank AG Rostock

Hochschulausbildung

Studium der Humanmedizin	10/00 – 11/06 Universität Rostock
<ul style="list-style-type: none"> • Physikum, Note „gut“ • 1. Staatsexamen, Note „gut“ • 2. Staatsexamen, Note „gut“ • 3. Staatsexamen, Note „sehr gut“ • Approbation als Arzt 	<ul style="list-style-type: none"> 09/02 09/03 09/05 11/06 09.11.2006

Beruflicher Werdegang

Assistenzarzt	seit 01.12.2006 Klinik für Innere Medizin, Klinikum Süd Rostock
---------------	---

Promotion

Universität Rostock	seit 2003
Zentrum für Pharmakologie und Toxikologie	
PD Dr. med. Jutta Merkord	
„Der Einfluss von Natriumselenit bei wiederholter oraler therapeutischer sowie prophylaktischer Applikationen auf die durch Dibutylzinndichlorid (DBTC) induzierte Pankreatitis an der Ratte“	

Publikationen

M. Lemke, N. Görl, A. Berg, H. Weber, G. Hennighausen J. Merkord	2006
„Influence of Selenium Treatment on the Acute Toxicity of Dibutyltin Dichloride in Rats“	
Pancreatology 2006; 6(5): 486-496	

Publizierte Abstracts

N. Görl, M. Lemke, H. Weber, A. Berg, G. Hennighausen
J. Merkord 2006

“Influence of daily oral Selenium treatment on the development of dibutyltin dichloride-induced pancreatitis in rats”
Naunyn-Schmiedeberg’s Arch Pharmacol 2006; 370: 99

N. Görl, M. Lemke, H. Weber, A. Berg, J. Merkord 2007
“Influence of Daily Oral Prophylactic Selenium Treatment on DBTC-Induced Pancreatitis in Rats”
Abstractband EPC Newcastle 2007; P28

Vorträge

N. Görl, M. Lemke, H. Weber, A. Berg, J. Merkord 2006
„Der Einfluss prophylaktischer Selengaben auf die DBTC-induzierte Pankreatitis in der Ratte“
Deutscher Pankreasclub 2006 in Greifswald

Posterbeiträge

Europäischer Pankreasclub Graz 2004
J. Merkord, N. Görl, M. Lemke, G. Hennighausen
“Influence of selenium on the toxicity of Dibutyltin Dichloride (DBTC) on bile duct and liver of rats”

Deutscher Pankreasclub Freiburg 2005
N. Görl, M. Lemke, H. Weber, A. Berg, G. Hennighausen
J. Merkord
„Einfluss einer täglichen oralen Na-Selenit-Substitution auf die Entwicklung der DBTC-Pankreatitis an der Ratte“

Dt. Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie Mainz 2006
N. Görl, M. Lemke, H. Weber, A. Berg, G. Hennighausen
J. Merkord
„Einfluss einer täglichen oralen Selensubstitution auf die Entwicklung der Dibutylzinndichlorid-induzierten Pankreatitis in der Ratte“

Mitgliedschaften

Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin seit 2007