

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. B. Drewelow)
des Zentrums für Pharmakologie und Toxikologie
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. habil. B. Drewelow)
Der Medizinischen Fakultät
Universität Rostock

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Ertapenem und Meropenem im Pankreas der Ratte

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von:
Celine C. A. Rasche-Schürmann, geb. in Bielefeld
aus Hannover

Rostock, 2008

urn:nbn:de:gbv:28-diss2009-0120-1

Dekan: Prof. Dr. med. Emil C. Reisinger

1. Gutachter:

2. Gutachter:

3. Gutachter:

Hoffnung ist nicht die Überzeugung, dass etwas gut ausgeht,
sondern die Gewissheit, dass etwas Sinn hat, egal wie es ausgeht.

Václav Havel

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Antibakterielle Chemotherapeutika	1
1.2	Die Gruppe der Carbapeneme	2
1.2.1	Wirkpektrum der Carbapeneme	4
1.2.2	Klinischer Stellenwert der Carbapeneme	4
1.3	Die akute Pankreatitis	5
1.3.1	Ätiologie der akuten Pankreatitis	8
1.3.2	Therapie der akuten Pankreatitis	8
1.3.3	Infektion von Nekroseherden bei akuter Pankreatitis	9
1.4	Der Stellenwert von Antibiotika zur Prophylaxe und Therapie bei akut nekrotisierender Pankreatitis	10
1.4.1	Das Penetrationsvermögen von Antibiotika in das Pankreas	10
1.4.2	Bisherige Erkenntnisse zur Gewebegängigkeit von Carbapenemen	11
1.5	Tierexperimentelle Modelle bei Untersuchungen zur akuten Pankreatitis	11
1.6	Fragestellung und Zielsetzung	13
2	Material und Methoden	15
2.1	Tierexperimentelle Untersuchungen	15
2.1.1	Verwendetes Material	15
2.1.2	Die Versuchstiere	16
2.1.3	Die experimentelle Durchführung	17
2.2	Die Analytik der Serum- und Gewebeproben	21
2.2.1	Die histologische Begutachtung	21
2.2.2	Die Bestimmung der Enzymaktivitäten	21
2.2.3	Die Antibiotikakonzentrationsbestimmungen	21
2.3	Verwendete statistische Verfahren	23
3	Ergebnisse	25
3.1	Ergebnisse der pathologischen Gewebeparameter	26
3.1.1	Makroskopische Befunde	26
3.1.2	Histologische Befunde	27
3.1.3	Amylase und Lipase im Serum	28
3.2	Ertapenem und Meropenem in Serum und Gewebe der Ratte	30
3.2.1	Antibiotikakonzentrationen im Serum	31
3.2.2	Antibiotikakonzentrationen im Pankreasgewebe	35
4	Diskussion	40
4.1	Das Tiermodell der akut nekrotisierenden Pankreatitis	41

	4.1.1	Makroskopische und histologischen Begutachtung	42
	4.1.2	Amylase- und Lipaseaktivität im Serum	42
4.2		Serum- und Gewebekonzentration von Ertapenem und Meropenem bei Ratten mit einer akut nekrotisierenden Pankreatitis und gesunden Kontrolltieren	43
	4.2.1	Serumkonzentrationen	43
	4.2.2	Pankreasgewebekonzentrationen	45
	4.2.3	Muskelgewebekonzentrationen	48
4.3		Klinische Bedeutung	49
5		Zusammenfassung	53
6		Literaturverzeichnis	57

Thesen

Lebenslauf

Danksagung

Eidesstattliche Erklärung

Anhang

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACE	Acetylcholinesterase
ANP	akut nekrotisierende Pankreatitis
bzw.	beziehungsweise
DHP	Dihydropeptidase
ERCP	endoskopische retrograde Cholangiopankreatographie
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
i.v.	intravenös
K	Kontrolle
KG	Körpergewicht
Max.	Maximum
MHK	Minimale Hemmkonzentration
Min.	Minimum
MW	Mittelwert
PPB	Plasmaproteinbindung
s.	siehe
sec.	Sekunde
spp.	Spezies
Stabw	Standardabweichung
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Antibakterielle Chemotherapeutika

Chemotherapeutika im engeren Sinne sind chemisch synthetisch hergestellte Substanzen, die entweder antimikrobiell (antimikrobielle Chemotherapie) oder antineoplastisch (antineoplastische Chemotherapie) wirksam sind. Die antimikrobielle Chemotherapie kann sich dabei gegen Bakterien, Viren, Pilze oder Protozoen richten (Drewelow/Reisinger 2006).

Der amerikanische Mikrobiologe S. Waksman führte 1945 den Begriff ‚Antibiotikum‘ für ‚eine chemische Substanz mikrobiellen Ursprungs, die antibiotische Wirkung entfaltet‘ in die medizinische Fachsprache ein. Grundlage für diese Nomenklatur waren L. Pasteurs Beobachtungen 1877 zur Wirkweise der ‚Antibiotika‘ (-biose/-biosis *grichisch* Leben im Sinne von Lebens-, Lebensvorgänge betreffend, Verhaltensweisen lebender Organismen betreffend) ohne diese jedoch erklären zu können: „Leben verhindert Leben“ (Schott 2000). Schätzungsweise existieren in der Natur 6000 - 8000 antibiotisch wirksame Substanzen; nur ein kleiner Teil davon kommt zur therapeutischen Anwendung, da die Stoffe meist hoch toxisch und chemisch instabil sind (Pedroni et Zweifel 1984).

Da viele Antibiotika auch chemisch synthetisch oder halbsynthetisch hergestellt werden können, ist eine Abgrenzung zwischen den Begriffen Chemotherapeutika und Antibiotika zunehmend schwierig. Der Begriff Antibiotika wird in der Regel bevorzugt. (Drewelow/Reisinger 2006)

1.2 Die Gruppe der Carbapeneme

Die Gruppe der Carbapeneme entwickelte sich seit den 70er Jahren mehr oder weniger direkt aus Olivanic-Säuren des Keims *Streptomyces olivaceus*, welche bei einem Screening für β -Laktamaseinhibitoren auffielen. Ausschlaggebend hierfür waren erste Erfolge auf der Suche nach β -Laktam-Antibiotika im Jahr 1971 mit der Entdeckung des Cephalosporins aus *Streptomyces* spezie. Erst mit der eher zufälligen Entdeckung von Thienamycin im Rahmen eines Forschungsprojektes zur Identifizierung von Peptidoglycan-Synthese-Inhibitoren gelang es Albers-Schonburg et al. 1978, ein chemisch stabiles Molekül zu finden. Thienamycin unterscheidet sich nur in seiner trans-Konfiguration von Olivanic-Säure sowie den klassischen Penicillinen und Cephalosporinen (alle cis-Konfiguration).

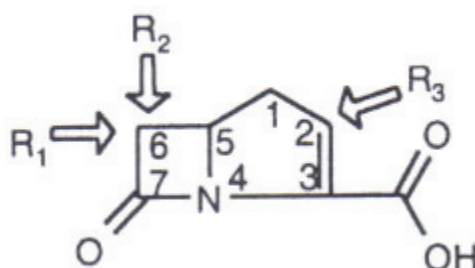


Abb. I: Chemische Struktur der Carbapeneme (aus: Bonfiglio et al. 2002, Recent developments in carbapenems. Expert Opinion Investigating Drugs)

Insgesamt umfasst die Gruppe der β -Laktam-Antibiotika heute eine Vielzahl von allgemein gut verträglichen Substanzen und stellt mehr als die Hälfte aller verwendeten antibiotischen Medikamente. Sie zeigen ein sehr breites Wirkungsspektrum im gramnegativen und grampositiven Bereich einschließlich der Anaerobier und eine hohe β -Lactamase-Stabilität.

Aufgrund ihres Wirkungsspektrums werden die Carbapeneme in 2 Gruppen eingeteilt. Zur Gruppe 1 zählen die älteren Vertreter Imipenem/Cilastatin und Meropenem. Zur Gruppe 2 zählt das im Jahr 2002 neu eingeführte Ertapenem, das sich von den anderen Carbapenemen durch eine geringere Wirksamkeit auf *Pseudomonas* spp. und *Acinetobacter* spp. unterscheidet (Drewelow/Reisinger 2006, Cunha 2002).

Imipenem wird in durch eine renale Dipeptidase (Dehydropeptidase I) in einen nephrotoxischen Metaboliten umgewandelt. Durch die Kombination mit dem Dihydropeptidase-Inhibitor Cilastatin (in Zienam® in Kombination mit Imipenem) werden die Hydrolyse und damit die Nephrotoxizität vermindert. Meropenem und Ertapenem sind stabil gegenüber diesem Enzym und brauchen keinen Kombinationspartner.

Alle Carbapeneme sind weitestgehend β -Lactamase-stabil. Auf Methycillin-resistente Staphylokokken (MRSA) zeigen sie keine Wirkung. Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal sind die pharmakokinetischen Parameter. Die Verteilung der Carbapeneme erfolgt überwiegend extrazellulär, das relative Verteilungsvolumen liegt zwischen 0,1 l/kg KG (Ertapenem) und 0,2 l/kg KG (Imipenem, Meropenem). Die Proteinbindung wird für Ertapenem mit > 90 %, für Imipenem/Cilastatin und Meropenem deutlich niedriger mit 20 % bzw. 2 % angegeben.

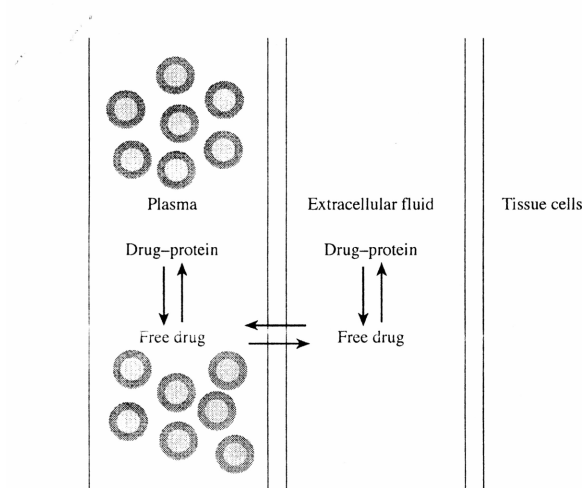


Abb. II: Verteilung von β -Laktam-Antibiotika zwischen Serum und interstitiellem Raum. Nur die nicht an Protein gebundenen Moleküle gelangen in den Interzellularraum. (aus: Nix et al. 2004, S. ii25)

Alle Carbapeneme werden teilweise metabolisiert und vorzugsweise renal eliminiert. Die Halbwertszeit bei nierengesunden Patienten liegt bei den älteren Carbapenemen bei einer Stunde. Ertapenem zeigt wegen der höheren Pharmaproteinbindung eine längere Halbwertszeit von etwa 4 Stunden und kann daher einmal täglich dosiert werden. Carbapeneme wirken wie alle β -Laktam-Antibiotika bakterizid und zeigen eine zeitabhängige Pharmakodynamik. (Drewelow/Reisinger 2006)

1.2.1 Wirkspektrum der Carbapeneme

Carbapeneme zeichnen sich durch ein breites Wirkspektrum gegen grampositive und gramnegative Erreger sowie gegen Anaerobier aus. Speziell von Ertapenem nicht erfasst werden *Pseudomonas spp.*, *Enterococcus ssp.* und Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (Cunha 2002). Alle Carbapeneme sind durch ihr chemisches Grundgerüst stabil gegen fast alle klinisch relevanten β -Lactamasen.

1.2.2 Klinischer Stellenwert der Carbapeneme

Das breite Wirkspektrum, die allgemein gute Verträglichkeit und der relativ überschaubare Anteil an unerwünschten Arzneimittelwirkungen macht die Gruppe der Carbapeneme zu einer wichtigen Therapieoption bei der Behandlung schwerer Infektionen. Livermore et al. 2003 unterstreichen die entscheidende Stellung der Carbapeneme bei ambulant erworbenen schweren Infektionen mit inhomogenem Keimspektrum (Aerobier und Anaerobier). Ertapenem besitzt in Deutschland/Europa die Zulassung für intraabdominelle Infektionen, ambulant erworbenen Pneumonien sowie akute gynäkologische Infektionen (Fachinformation Invanz[®]). In den USA besteht eine offizielle Zulassung darüber hinaus für Hautinfektionen sowie für schwere Harnwegsinfektionen (Livermore et al. 2003). Für Meropenem ist die deutsche Zulassungsindikation unter anderem erweitert auf nosokomiale Infektionen, Meningitiden, Infektionen der Haut und des Weichteilgewebes, Infektionen der Nieren und Harnwege sowie bei Fieberschüben in der Neutropenie bei Verdacht auf bakterielle Infektion (Fachinformation Meronem[®]). Imipenem ist ebenfalls zugelassen bei Knochen- und Gelenksinfektionen (Fachinformation Zienam[®]).

Unerwünschte Wirkungen der Carbapeneme

Die wichtigste unerwünschte Wirkung der Carbapeneme besteht in der Selektion von resistenten Mikroorganismen aufgrund der breiten Wirksamkeit. Auch Hefen können selektioniert werden und zur sekundären Infektionsgefahr für den Patienten werden (z.B. orale Candidiasis). Weiter können Allergien (auch Kreuzallergien mit Penicillinen) auftreten. Krampfanfälle sind in erster Linie auf Cilastatin zurückzuführen und treten daher unter

Meropenem und Ertapenem seltener auf. Außerdem treten Übelkeit, Erbrechen und Durchfälle auf. Phlebitiden an der Injektionsstelle, Veränderungen des Blutbildes und der Blutgerinnung, Erhöhung der Transaminasen (häufig während der Behandlung bei Kindern beobachtet) und pseudomembranöse Kolitis können vorkommen (Drewelow/Reisinger 2006).

1.3 Die akute Pankreatitis

Die akute Pankreatitis wird pathologisch in zwei Formen unterteilt:

- a) die akute interstitielle (ödematöse), oft selbstlimitierende Pankreatitis
- b) die akut (hämorrhagisch-) nekrotisierende Pankreatitis mit Teil- oder Totalnekrose (Abb. III).

Neuere Erkenntnisse in der Pathophysiologie der Erkrankung lassen jedoch eine klare Trennung beider Formen nicht mehr sicher zu. Vielmehr scheint es einen fließenden Übergang beider Formen zu geben (Domínguez-Muñoz 2005, Beger et al. 2002). Daher unterscheidet eine neuere Nomenklatur nach klinischen Aspekten zwischen ‚milder‘ und ‚schwerer‘ akuter Pankreatitis (Atlanta-Klassifikation von 1992).

Definitionen der akuten Pankreatitis nach der Atlanta-Klassifikation, entsprechend dem International Symposium of Acute Pancreatitis, Atlanta 1992 (aus: Domínguez-Muñoz 2005):

- Acute pancreatitis: acute inflammatory process of the pancreas, with variable involvement of other regional tissues or remote organ systems.
- Severe acute pancreatitis: associated with organ failure and/or local complications, such as necrosis, abscess or pseudocyst.
- Mild acute pancreatitis: associated with minimal organ dysfunction and an uneventful recovery, and lacks features of severe acute pancreatitis.

Die nekrotische/hämorrhagische Ausprägung einer Pankreatitis ist in ihrer klinischen Häufigkeit sehr viel seltener. Domínguez-Muñoz spricht in seiner Zusammenstellung (2005) von 15 - 20 % der Fälle akuter Pankreatitis. Oft ist der Krankheitsverlauf in dieser Gruppe

hingegen gravierender und nicht selten letal (mit Teilnekrose Letalität ca. 15 %, mit Totalnekrose >50 %; Herold 2001). Problematisch sind dabei nicht die mild-ödematösen Verlaufsformen bei ca. 80-90 % der Patienten, sondern die akut nekrotisierende Entzündung (10-20% der Fälle). Je mehr nekrotisches Areal im Organ vorliegt, desto höher ist das Infektionsrisiko und umso schlechter ist die Prognose (Schmid et al. 1999). Kommt es zur Totalnekrose, steigt die Letalität dabei auf mehr als 50% an, meist durch septische Komplikationen im Rahmen einer bakteriellen Infektionen von Nekroseherden (Herold 2001). Beger et al. (2002) geben eine Letalität der nekrotisierenden Pankreatitis von 15-25% an.

Dabei ist die akute Pankreatitis primär kein infektiöser Prozess. Durch sich ausbildende Nekrosen und entzündlich bedingte Permeabilitätsveränderungen kommt es zur sekundären Keimbesiedlung aus dem umliegenden Gewebe (endogene Keime der physiologischen Darmflora, Abb. IV). Die Folge sind septische Komplikationen mit Multiorganversagen. Der Zeitpunkt der bakteriellen Besiedlung bestimmt ebenfalls die Prognose. Eine Heilungschance ist umso schlechter, je früher die Infektion auftritt; meist geschieht dies in der zweiten oder dritten Woche der Erkrankung. Die Frühphase der schweren Pankreatitis mit ‚pankreatogenem‘ Schock wird dank der heutigen intensivmedizinischen Möglichkeiten häufig überlebt. Die infektiösen Komplikationen sind entscheidend für die hohe Mortalität der Erkrankung. Da die Infektion von Pankreasnekrosen ein sekundäres Phänomen ist, stellt sich die Frage nach dem Nutzen eines prophylaktischen Einsatzes von Antibiotika in der Frühphase der Erkrankung. Klinische Studien mit unterschiedlichen Fragestellungen (Antibiotikaprophylaxe vs. Kontrolle ohne Antibiotikaprophylaxe: z.B. Pederzoli et al 1993, Sainio et al 1995, Schwarz et al 1997, Spiacac et al. 2003; verschiedene Antibiotikaregime: z.B. Bassi et al. 1998, Nordback et al. 2001, Isenmann et al. 2004, Maravi-Poma et al. 2003) zeigten, dass eine Senkung der infektiösen Komplikationen bei verminderter Infektionsrate nekrotischer Areale durch den Einsatz von Antibiotika prinzipiell möglich ist. Eine deutliche Senkung der Mortalität zeichnet sich vereinzelt ab (Sanio et al., Delcenserie et al. 1996, Nordback et al. 2001). Der Wahl eines geeigneten Präparates kommt dabei besondere Bedeutung zu. Neben dem Erregerspektrum ist die Penetrationsfähigkeit in das Organ zu bedenken. Es ist bekannt, dass nicht alle hochpotenten Breitspektrum-Antibiotika über vergleichbare Gewebeparameter für das Pankreas verfügen und therapeutisch wirksame Arzneimittelkonzentrationen im Pankreasgewebe nicht immer erreicht werden.



Abb. III: Veränderungen der Azinusepithelzellen bei akut nekrotisierender Pankreatitis. Auflösung der Membransysteme der Zellen. Übergreifen der Nekrose auf die Kapillarwände. (aus: Morgenroth et al. 1989: Pankreatitis. Walter de Gruyter, Berlin New York, S. 44)

Neben der akuten Pankreatitis existiert die chronische Form der Pankreatitis mit

- a) fokaler Nekrose,
- b) segmentaler oder diffuser Fibrose bzw.
- c) kalzifizierend

(Klassifikation nach Marseille 1984).

Während lange Zeit die chronische Pankreatitis als eigenständige Erscheinung galt, wird derzeit davon ausgegangen, dass rezidivierende Schübe einer akuten Pankreatitis die charakteristischen chronischen Entzündungserscheinungen und Fibrosen der chronischen Form auslösen können (Domínguez-Muñoz, 2005). Der Fokus auf die optimale Therapie der akuten Pankreatitis zur Vermeidung chronischer Schäden wird daher umso wichtiger (Steer et Perides 2005).

1.3.1 Ätiologie der akuten Pankreatitis

Ätiologisch spielt für die akute Pankreatitis ein Verschluss der Papilla Vateri bzw. Gallenwegserkrankungen die wichtigste Rolle (45 %). Durch den Rückstau von Galle kommt es zu einem Druckanstieg in den Pankreasgängen mit entsprechenden Zellschäden. Dieser führt zunächst zu einem Ödem und zur Freisetzung von autolytisch wirkenden Enzymen. Zentrale Funktion wird dabei dem Enzym Trypsin zugeschrieben. Des Weiteren sind Blutzirkulationsstörungen und Stoffwechselstörungen (besonders Hyperkalzämie und Hypertriglyzeridämie) von Bedeutung für die Genese der Pankreatitis.

Auch Alkoholabusus (35 %), Medikamente (5 %) wie zum Beispiel Diuretika, ACE-Hemmer, Östrogene und Glukokortikoide, Adipositas und Bauchtraumen (z.B. nach endoskopisch retrograder Cholangiopankreatographie, ERCP, (1 - 5 %), Organtransplantation) sind als Auslöser einer Pankreatitis bekannt. Eine idiopathische Form der akuten Pankreatitis wird in ca. 15 % beobachtet (Steer et Perides 2005, Herold 2001, Greten 2001).

1.3.2 Therapie der akuten Pankreatitis

Therapeutisch wird ein symptomatischer Ansatz verfolgt, d.h. Nahrungskarenz, Spasmolytika sowie eine suffiziente Schmerztherapie. Eine zeitweilige parenterale, fettarme Ernährung ist in einigen Fällen sinnvoll.

Eine interdisziplinäre Versorgung auf der Intensivstation ist bei der nekrotischen/hämorrhagischen Ausprägung einer Pankreatitis notwendig. Neben der symptomatischen Therapie mit Nahrungskarenz und ausreichender Analgesie ist oftmals eine eventuell rezidivierende chirurgische Sanierung der Nekroseherde bei den überwiegend multimorbiden Patienten nötig. Hierbei gilt es den ‚richtigen‘ Zeitpunkt abzuschätzen (Connor et al. 2004, Werner et al. 2003, Beger et al. 2002). UT Hopt fasste dies 1998 folgendermaßen zusammen: „Die Patienten sterben nicht mehr in der Frühphase an den Folgen des Schocks, sondern sekundär in der Spätphase an den Folgen der pankreatogenen Sepsis. Ziel der therapeutischen Bemühungen sollte deshalb die Prävention der bakteriellen Translokation/Infektion sein“.

1.3.3 Infektion von Nekroseherden bei akuter Pankreatitis

Die besondere prognostische Bedeutung kommt dem Risiko einer -schwer einzudämmenden- Infektion der Nekroseherde zu. Die septischen Komplikationen sind überwiegend verantwortlich für den oft tödlichen Verlauf der Erkrankung (unter anderen Paraskeva et al. 2005, Solomkin 2003, Isaji et al. 2003, Werner et al. 2003, Uhl et al. 1998, Beger et al. 1986). Das Keimspektrum bilden dabei in erster Linie Keime der natürlichen Magen-Darm-Flora, wie *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. und *Enterobacter* spp. als gramnegative Keime sowie *Staphylococcus aureus ed epidermidis*, *Enterokokken* als grampositive Mikroorganismen und Anaerobier (Beger et al. 2002, Isenmann et al. 2001). Pathophysiologisch erklärt wird die Möglichkeit der ‚Keimwanderung‘ durch Änderungen der Permeabilität auf Grundlage der Entzündungsvorgänge. Mögliche Infektionswege für die Keime stellen das Blut (1), aufsteigend aus dem Darm via Ductus pancreaticus (2), die Portalvene und die Leber über das Gallengangssystem (3) sowie Migrationsvorgänge aus dem Lymphsystem (4) dar (Abb. IV). Natürliche Barrieren, wie intakte Membranen, fallen; die Keime können übersiedeln (u.a. Ammori 2003).

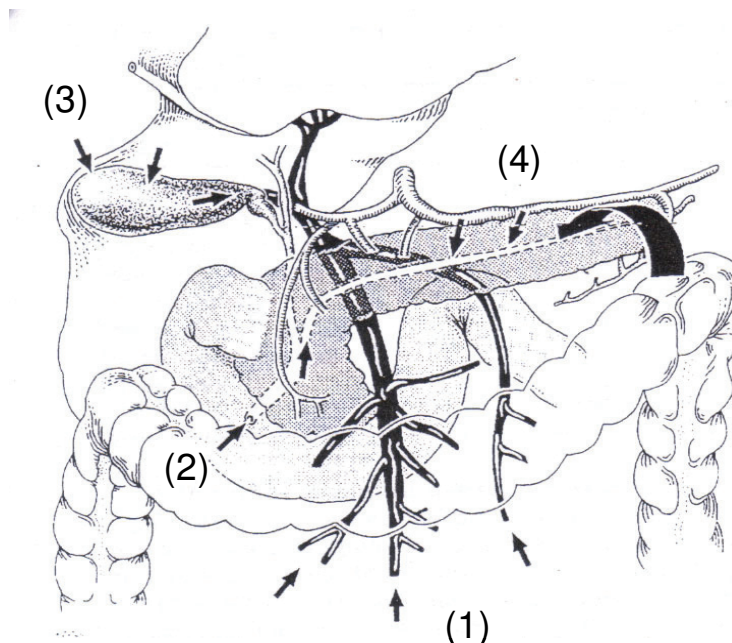


Abb. IV: Mögliche Wege für Bakterien in nekrotisches Pankreasgewebe (aus: Uhl et al. 1998: Infections complicating pancreatitis: diagnosing, treating, preventing. New Horiz. 6(2Suppl): S.73)

1.4 Der Stellenwert von Antibiotika zur Prophylaxe und Therapie bei akut nekrotisierender Pankreatitis

Da sich die bakterielle Infektion der Pankreasnekrosen sowie peripankreatischer nekrotischer Areale als prognostisch wichtigster Faktor herauskristallisiert hat (Butturini et al. 2005, Beger et al. 1999, Isenmann 1999), liegt die Verabreichung von Antibiotika nahe. Besonders der prophylaktische Einsatz dieser Arzneimittelgruppe zur Vermeidung infektiöser Komplikationen der Nekroseareale ist bis heute umstritten. Zusammenfassende Arbeiten über die aktuelle Studienlage liefern dazu u.a. Bassi et al. (2004), DeWaele et al. (2004), Pezzilli (2004), Villatoro et al. (2004) und Beger et al. (2002). Butturini et al. (2005), Bassi (2005). Sie fassen dabei zusammen, dass der prophylaktische Einsatz insgesamt die Infektionsrate nekrotischer Areale reduzieren konnte und zu einer verringerten Morbidität- und Mortalitätsrate führte. Zu bedenken ist dabei das vermehrte Auftreten von Pilzinfektionen in dem betroffenen Organ (mit schlechter Prognose) sowie die Problematik der Resistenzentwicklung.

Über geeignete Präparate und Einsatzkriterien wird daher viel diskutiert. Beger et al. (2002) bemängeln, dass etwa $\frac{1}{4}$ der Ärzte Antibiotika auch bei der milden Verlaufsform (ohne Nekrosen) einsetzen und zudem nur in der Hälfte der Fälle Präparate mit nachgewiesener Wirksamkeit angewendet werden. Es konnte gezeigt werden, dass unter Imipenem im Vergleich zu z.B. Flurorchinolonen septische Komplikationen im Rahmen der Erkrankung in geringerer Anzahl auftraten. Für Ciprofloxacin und Metronidazol konnte bisher kein positiv-prophylaktischer Effekt im Rahmen der akut nekrotisierenden Pankreatitis gezeigt werden (Bassi et al. 1998, Büchler et al. 1992, Isenmann et al. 2004, Maravi-Poma et al. 2003).

1.4.1 Das Penetrationsvermögen von Antibiotika in das Pankreas

Das Penetrationsvermögen von Breitspektrum-Antibiotika in das Pankreasgewebe ist abhängig vom Wirkstoff (Gregg et al. 1985, Burns et al. 1986, Koch et Drewelow 1989). Burns et al. sprechen von einer Blut-Pankreas-Schranke wie sie z.B. auch für das Gehirn bekannt ist. Davey (1990) macht für das unterschiedliche Penetrationsvermögen in verschiedene Gewebe histologisch unterschiedliche Kapillarstrukturen der einzelnen Gewebe verantwortlich. Neben

dem Aufbau der Kapillare und dem Grad der Durchblutung spielen pH-Wert und Transportmechanismen einzelner Membranen eine entscheidende Rolle. Dem gegenüber stehen physikochemische Eigenschaften wie Molekülgröße, Plasma-Protein-Bindung (PPB), Lipidlöslichkeit und Ionisationskonstante der einzelnen Substanzen.

In einer Übersichtsarbeit fassen Butturini et al. (2005) die bisherigen Ergebnisse zum Penetrationsvermögen von Antibiotika in das Pankreas zusammen. Demnach weisen Clindamycin, Fluorchinolone, Imipenem, Metronidazol und Mezlocillin eine gute Penetration in das Pankreasgewebe auf, wohingegen Aminoglycoside, Ampicillin, Cephalosporine und Tetracycline nur unzureichend in das Pankreasgewebe penetrieren.

1.4.2 Bisherige Erkenntnisse zur Gewebegängigkeit von Carbapenemen

Zur Antibiose im Rahmen der Therapie einer akuten nekrotisierenden Pankreatitis hat sich Imipenem etabliert; auch für Meropenem existieren hinreichende Daten. Die gute Gewebepenetration beider Präparate in das Pankreasgewebe führt zum Erreichen der Minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) zur Abtötung der meisten, die lokalen Infektionen verursachenden Erreger in den klinisch relevanten Kompartimenten des Pankreas und der peripankreatischen Gewebeareale.

Der relativ neue Vertreter der Carbapeneme, das Ertapenem, variiert im Keimspektrum nicht wesentlich von Imipenem oder Meropenem. Die verbesserte klinische Handhabung macht Ertapenem jedoch zu einer interessanten Alternative für das Indikationsgebiet der akut nekrotisierenden Pankreatitis. Eine Untersuchung bezüglich der Pankreasgewebegängigkeit des Antibiotikums ist daher aus den genannten Gründen angebracht.

1.5 Tierexperimentelle Modelle bei Untersuchungen zur akuten Pankreatitis

Pharmakokinetische Studien mit Antibiotika bei akut nekrotisierender Pankreatitis am Menschen sind nur im Rahmen der jeweiligen Therapie möglich. Sie lassen sich kaum in

großer Fallzahl reproduzieren und die individuellen Unterschiede wie Alter, Geschlecht, Anamnese, Ätiologie und Schweregrad der Erkrankung erschweren vergleichende Aussagen. Für Untersuchungen im Zusammenhang mit der Pankreatitis spielt daher das Rattenmodell eine Schlüsselrolle.

Einen umfassenden, kritischen Überblick bestehender Rattenmodelle für die Pankreatitisforschung geben J. Mössner et al. in ihrem Buch ‚Erkrankungen des exkretorischen Pankreas‘ (1995), Nizze (1980) und Merkord (2003). Die jeweiligen Modelle unterscheiden sich in der Art der Induktion einer Pankreatitis. Dies geschieht z.B. durch duodenalen Reflux (Duodenalschleife), retrograde Injektion von Galle, enzyminduziert, Obstruktion des Pankreasganges, Cholin-Defizit-Ethionin-Ergänzungsdiät (CDE-Diät), hormoninduziert, DBTC-induziert (Dibutylzinndichlorid; systemisches Gift) oder mittels Olivenöl-Injektion. Die unterschiedlichen Modelle lösen unterschiedliche Formen einer Pankreatitis aus. Für Fragestellungen im Zusammenhang mit akut nekrotisierender Pankreatitis ist das Pankreatitismodell von Wanke et al. (1970) an Ratten etabliert. Hierbei wird Olivenöl retrograd über den Ductus pancreaticus in die Bauchspeicheldrüse appliziert. Durch den physikalischen Druck der Injektion sowie durch die durch das Öl ausgelöste Enzymentgleisung besonders der autolytisch wirksamen Lipase kommt es dabei schnell zum Azinuszellschaden. Ödembildung und Fettgewebsnekrosen sind die Folge. Nach ca. 24 h ist bereits eine ausgeprägte Entzündung der Bauchspeicheldrüse nachweisbar. Die Entzündungsvorgänge entsprechen in etwa den menschlichen physiologischen Verhältnissen. Anatomisch weicht das Rattenpankreas jedoch von menschlichen Strukturen ab. Bei der Ratte existiert ein Pankreas diffusum anstelle eines kompakten Organs und zentroazinäre Zellen fehlen (Wanke 1968).

Grundlage dieser Arbeit war das Modell nach Wanke. Es ist in hoher Fallzahl reproduzierbar und relativ einfach durchzuführen. Zur Verifizierung einer ausgelösten Pankreatitis bzw. eines gesundes Pankreas dienten serologische und histologische Untersuchungen.

1.6 Fragestellung und Zielsetzung

Trotz aller Fortschritte in der Medizin ist die akute Pankreatitis noch immer mit einer hohen Mortalitätsrate von 2 - 20 % verbunden. Besonders kritisch ist dabei die schwere Form der akut nekrotisierenden Entzündung (10 - 20 % der Fälle). Durch sich ausbildende Nekrosen und entzündlich bedingte Permeabilitätsveränderungen kommt es zur sekundären Keimbesiedlung aus dem umliegenden Gewebe (endogene Keime der physiologischen Darmflora, Abb. IV). Die Folge sind septische Komplikationen mit Multiorganversagen. Die infektiösen Komplikationen sind entscheidend für die hohe Mortalität der Erkrankung. Da die Infektion von Pankreasnekrosen ein sekundäres Phänomen ist, stellt sich die Frage nach dem Nutzen eines prophylaktischen Einsatzes von Antibiotika in der Frühphase der Erkrankung. Es ist bekannt, dass nicht alle hochpotenten Breitspektrum-Antibiotika über vergleichbare pharmakokinetische Gewebeparameter für das Pankreas verfügen.

Aus der Gruppe der Carbapeneme zählen bisher Imipenem und Meropenem zu den Substanzen mit geeignetem antibiotischem Wirkspektrum bei ausreichender Penetration in das Pankreasgewebe. Über das Penetrationsvermögen von Ertapenem ist bisher noch wenig bekannt. Ziel dieser Arbeit waren vergleichende Untersuchungen von Ertapenem und Meropenem zu Pharmakokinetik und Gewebepenetration in Ratten mit einer akut nekrotisierenden Pankreatitis (ANP-Tiere) sowie gesunden Kontroll-Tieren (K-Tiere).

Folgende Fragen sollten mit den geplanten Untersuchungen beantwortet werden:

1. Wie hoch sind die Pankreas- und Muskelgewebekonzentrationen im Vergleich zur Plasmakonzentration?
2. Gibt es Unterschiede beim Vergleich der Gewebepenetration von gesundem und akut entzündlichem Pankreasgewebe?
3. Welcher Zusammenhang besteht zwischen der Nekroseausdehnung und der Verteilung des Antibiotikums in das Pankreas?
4. Liegen die ermittelten Pankreasgewebekonzentrationen oberhalb der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) für klinisch relevante bakterielle Erreger infektiöser Komplikationen bei akut-nekrotisierender Pankreatitis?

Zur Beantwortung dieser Fragen diente das Tiermodell der akut-nekrotisierenden Pankreatitis der Ratte nach Wanke. Beim Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass eine Übertragbarkeit der tierexperimentellen Befunde hinsichtlich der Pankreasgängigkeit von Antibiotika auf den Menschen besteht (siehe Kapitel 1.5). Systematische Untersuchungen am Menschen sind schwer realisierbar, am Hund ist die notwendig hohe Versuchstierzahl ethisch nicht vertretbar.

2 Material und Methoden

2.1 Tierexperimentelle Untersuchungen

Für die geplanten pharmakokinetischen Untersuchungen erschien das Tiermodell zur Auslösung einer akuten nekrotisierenden Pankreatitis durch retrograde Injektion eines Agens in den Ductus pancreaticus an Ratten geeignet (siehe Kapitel 1.5). Die verwendete Injektionssubstanz in dieser Studie war Olivenöl.

Es erfolgte eine Randomisierung der Ratten in jeweils zwei Gruppen: Auslösung einer Pankreatitis (ANP-Tiere) vs. Kontrolle (keine Auslösung einer Pankreatitis, lediglich darstellende Laparotomie, K-Tiere). Die Applikation des jeweiligen Antibiotikums erfolgte für alle Tiere am Folgetag über eine Schwanzvene in jeweils gewichtsadaptierter Dosierung. Proben wurden für Ertapenem jeweils 10, 30, 60 und 240 min nach Gabe, für Meropenem entsprechend der kürzeren Halbwertszeit nach 10, 30, 60 und 120 min entnommen.

Die Genehmigung zur Vornahme von Versuchen an lebenden Wirbeltieren vom 18.03.2003 durch das Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommern lag vor (Aktenzeichen LVL-MV 310-4/7221.3-1.1-002/03).

2.1.1 Verwendetes Material

Die Antibiotika waren über die Apotheke erhältlich:

- **Ertapenem INVANZ®**, MSD Sharp&Dohme GmbH Haar
Dosierung 10 mg/kg KG i.v. (Gill et al. 1998)

- **Meropenem MERONEM®**, AstraZeneca GmbH Wedel
Dosierung 20 mg/kg KG i.v. (Saglamkaya et al. 2002; Yoshida et al. 1993)

Aufgelöst jeweils in physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9%).

Bei dem Olivenöl handelte es sich um natives oleum olivarum extra vierge (Oleum olivarum DAB 10, Caesar&Loretz, Hilden).

Als Narkosemittel diente Ketaminhydrochlorid KETAVET®, Pharmacia&Upjohn, Erlangen, in einer Konzentration von 100 mg/ml.

Nahtmaterial war ein Vicryl 3-0 Faden der Firma Ethicon®, Brüssel, Belgien.

Benutzte Kanülen waren Sterican® G26 x 1/2“ Luer der Firma Braun Melsungen, Melsungen.

2.1.2 Die Versuchstiere

Pro Versuchsreihe eines Medikamentes fanden 64 männliche Wistar-Tiere der Charles River Laboratories in Sulzfeld, Deutschland Verwendung. Sie waren ca. 10 Wochen alt, wogen zwischen 200 - 300 g und wurden bei Zimmertemperatur mit natürlichen Lichtverhältnissen zu je 8 Tieren pro Käfig der vorgeschriebenen Standardgröße für eine Woche der Akklimatisation mit Futter und Wasser ad libitum gehalten. Die Versuche fanden für alle Messreihen zur gleichen Tageszeit statt. Es wurden nur Tiere in alters- und gewichtsgerechtem sowie augenscheinlich gesundem Zustand einbezogen.

Entsprechend des Versuchsaufbaus erfolgte eine Randomisierung der Tiere zu 9 Tieren für die Auslösung einer Pankreatitis (ANP-Tiere) sowie 7 Tieren zur Kontrolle (keine Auslösung einer Pankreatitis, Kontrolltiere) mit jeweils getrennter Käfighaltung.

2.1.3 Die experimentelle Durchführung

2.1.3.1 Erster Versuchstag; Induktion der akuten Pankreatitis

Am 1. Tag erfolgte zunächst die Dokumentation des Gewichtes und Narkotisierung der Tiere der jeweiligen Versuchsreihe mit initial 0,3ml Ketavet® intraperitoneal. Nach ca. 15 min waren die Tiere soweit eingeschlafen, dass die Bauchdecke mit einem kurzen Längsschnitt zunächst als Hautschnitt, dann als Muskelschnitt entlang der Linea alba vom Nabel bis auf Höhe des Xiphoid eröffnet werden konnte. Zur besseren Übersicht wurde die Bauchdecke mit einem Spreizer fixiert. Es erfolgte die anatomisch orientierende Darstellung des Pankreasgewebes. Dieses liegt im Unterschied zum Menschen bei der Ratte diffus verteilt und nicht so kompakt vor (Abb. V). Anschließend wurde der Pankreasgang, als heller Streif deutlich erkennbar, mit seiner Mündung im Duodenum aufgesucht. Die duodenale Öffnung hebt sich als dunkler Punkt mit der Papilla duodeni deutlich vom restlichen Gewebe farblich ab.



Abb. V: Pankreas diffusum der Ratte, Injection von Oleum olivarum in den Ductus pancreaticus.

Auslösung einer Pankreatitis, ANP-Tiere

Bei 9 Tieren erfolgte eine transduodenale Sondierung des Ductus pancreaticus über die Papilla duodeni mittels VENOFIX® - Butterfly, Braun Melsungen, Melsungen. Über diesen

wurden jeweils 0,2 ml raumtemperiertes Olivenöl unter Sichtkontrolle in einem Zeitraum von ca. 30 sec. mit einer Injektionsspritze des gleichen Herstellers appliziert. Zur Vermeidung eines sofortigen Rückflusses von Öl in das Duodenum wurde die Papille nach Entfernung des Butterflys für etwa eine Minute mit einer chirurgischen Pinzette leicht komprimiert.

Keine Auslösung einer Pankreatitis, K-Tiere

Bei den 7 Tieren der Kontrollgruppe erfolgte lediglich eine chirurgische Darstellung der Anatomie, ohne Manipulation am Ductus pancreaticus und ohne Olivenölinjektion.

Abschließend wurde der Darm reponiert und die Bauchdecke schichtweise wieder verschlossen. Peritoneum, Muskel- und Hautschicht wurden dabei durch eine fortlaufende Naht mit atraumatischen Vincrylfäden aneinander adaptiert.

Über Nacht wurden die Tiere in den entsprechenden Käfigen (ANP-Tiere bzw. K-Tiere) bei Raumtemperatur, natürlichen Lichtverhältnissen und Nahrungskarenz gehalten. Wasser ad libitum stand den Tieren zur Verfügung.

2.1.3.2 Zweiter Versuchstag; Applikation der Antibiotika, Probenentnahme

Nach 24 h wurden die Tiere erneut gewogen und initial mit reduzierter Dosis (0,2 ml) Ketavet® 100 mg/ml intraperitoneal narkotisiert. Im Anschluss erfolgte eine Hyperämisierung der Schwanzvenen im Wasserbad bei 37°C, so dass die Injektion des jeweiligen Antibiotikums vereinfacht möglich wurde. Die Dosierung des Antibiotikums richtete sich orientierend am Körpergewicht der Tiere. Das Ende der Injektion wurde zeitlich dokumentiert.

Probenentnahme

Proben wurden für Ertapenem jeweils nach 10, 30, 60 und 240 min, für Meropenem entsprechend der kürzeren Halbwertszeit nach 10, 30, 60 und 120 min entnommen. Teilweise mussten die Tiere erneut narkotisiert werden, um nach Ablauf des zu bestimmenden Zeitraumes Proben entnehmen zu können.

Für die Probenentnahmen wurde die Bauchdecke der Tiere zunächst entlang den Nähten des Vortages relaparotomiert und mit einem Spreizer fixiert. Unter anatomischer Darstellung erfolgte die makroskopische Beurteilung des Pankreasgewebes und eventueller Begleitbefunde (Aszitis, Verkalkungen). Zur Befunddokumentation einer akut nekrotisierenden Pankreatitis diente folgende Bewertungsskala (Tabelle 1):

Tabelle 1: Makroskopische Beurteilungsskala 24h nach Auslösung einer akut nekrotisierenden Pankreatitis durch retrograde Olivenölinjektion (Neumann, 1999)

Stadium I	ödematös verquollenes Pankreas, keine sichtbar nekrotischen Areale, keine Verkalkungen, keine Verfärbungen
Stadium II	ödematös verquollenes Pankreas, vereinzelt kleine nekrotische Areale sichtbar, wenige Kalkspritzer
Stadium III	großflächige grau-weissliche Nekroseherde sichtbar, zahlreiche Verkalkungen

Über die freipräparierte Vena cava inferior (Abb. VI) wurden die Tiere zur Serumgewinnung mithilfe S-MONOVETTEN® der Firma Braun und entsprechender Kanüle entblutet. Erneut wurde danach das Pankreas aufgesucht und großzügig aus seinem Gewebsverbund herausgetrennt. Nach Entfernung von Blut-, Flüssigkeits- und Fettgewebsrückständen auf Filterpapier kam das Bauchspeicheldrüsengewebe zur Aufbewahrung ohne Zusätze in Cryo-Röhrchen.

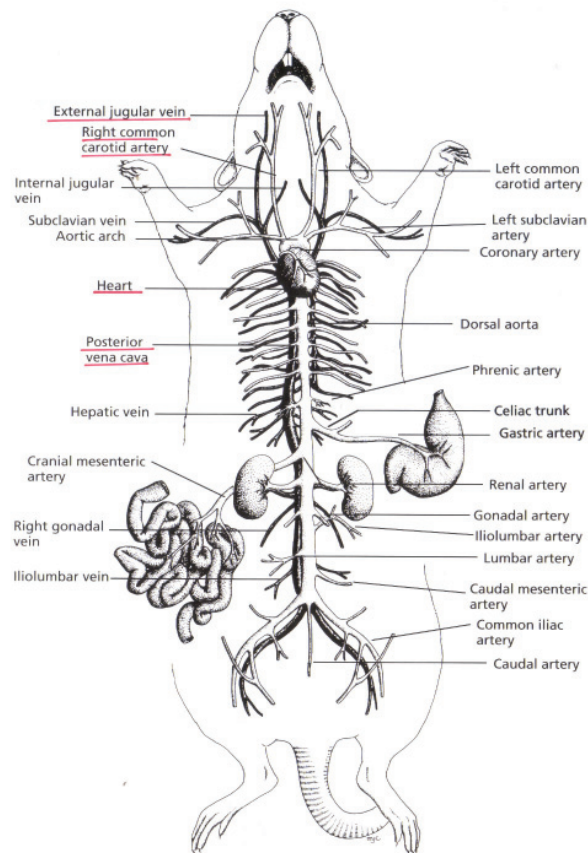


Abb. VI: Anatomie der Ratte

Anschließend wurden Muskelgewebeproben aus der Bauchdecke entnommenen (Größe ca. 1 cm³) und gleichermaßen verfahren.

Zur histologischen Aufarbeitung und mikroskopischen Beurteilung des Pankreas wurden aus jeder Messreihe ca. 0,5 cm³ große Gewebeproben von zwei zufällig ausgewählten ANP-Tieren und einem zufällig ermitteltem K-Tier in 4%iger Ca-Formalin-Lösung konserviert.

Probenaufbewahrung

Das gewonnene Blut wurde zeitnah zur Entnahme bei 1500 g für 10 min zentrifugiert, das Serum abpipettiert und jeweils in Cryo-Röhrchen bis zum Analysezeitpunkt bei -80 °C gelagert.

Die gewonnenen Gewebeproben von Muskel und Pankreas wurden sofort nach Entnahme bei -80 °C tiefgefroren.

Die toten Rattenkörper wurden fachgerecht entsorgt.

2.2 Die Analytik der Serum- und Gewebeproben

2.2.1 Die histologische Begutachtung

Durch Herstellung von Paraffinschnitten mit anschließender Hämatoxilin-/ Eosinanfärbung gelang die Begutachtung am Mikroskop bei 40-60 facher Vergrößerung.

2.2.2 Die Bestimmung der Enzymaktivitäten

Die Amylase- und Lipaseaktivitäten im Serum wurden mit handelsüblichen Testkits der Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim (Gesamt-Amylase SYS1 bzw. Lipase-Farbtest SYS1) im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universität Rostock bestimmt.

2.2.3 Die Antibiotikakonzentrationsbestimmungen

Die Bestimmung der Ertapenem- bzw. Meropenemkonzentration aus den gefrorenen Serum-, Pankreas- und Muskelproben geschah bis auf die Ertapenemkonzentration in Muskelgewebeproben mittels der High Pressure Liquid Chromatography- Methode (HPLC). Zur Verifizierung der Pankreasgewebespiegel von Ertapenem fand zusätzlich eine Konzentrationsbestimmung im standardisierten Agardiffusionstest mit Müller Hinton Agar,

Testkeim *Sarcina lutea* ACTT 9341, statt. Die finale Keimdichte beträgt dabei ca. 5×10^5 KBE (Kolonie bildende Einheit)/ml.

Ertapenemkonzentrationen in Muskelgewebeproben wurden ausschließlich mit dem oben genannten Bioassay bestimmt.

Untersuchungsreihe Ertapenem

HPLC für Ertapenem:

Serumvorbereitung: 200 µl Serum und 200 µl MES wurden mit 600 µl Acetonitril gemischt (10 sec. Vortex), bei 1500 g 5 min zentrifugiert und der Überstand mit 600 µl Dichlormethan gemischt (5 sec. Vortex). Nach 5 min Zentrifugation bei 1500 g wurden 10 µl des resultierenden Überstands der HPLC-Analyse zugeführt.

Pankreas-/Muskelgewebeprobenvorbereitung: Die Gewebeproben wurden gefroren grob zerkleinert und in einer Knochenmühle mit MOPS 1:1 (w/v) homogenisiert. 100 µl des Homogenats und 100 µl MES wurden mit 300 µl Acetonitril gemischt (10 sec. Vortex), bei 1500 g 5 min zentrifugiert und der Überstand mit 300 µl Dichlormethan gemischt (5 sec. Vortex). Nach 5 min Zentrifugation bei 1500 g wurden 10 µl des resultierenden Überstandes der HPLC-Analyse zugeführt.

Die Messungen erfolgten entsprechend einer im Institut für Klinische Pharmakologie der Universität Rostock entwickelten Methode nach Mundkowski (2006). Bei 15°C fand ohne weitere Vorbehandlung der Proben eine Gradienten - Reversed - Phase - HPLC unter Verwendung einer Hypersil® ODS 120-3, 125 mm x 3 mm Doppelsäule (Macherey & Nagel, Düren) mit UV-Detektion bei 300 nm Anwendung. Die Fließmittelkomponenten wurden dabei von initial 95:5 Wasser/Methanol (v/v, 25 mM Ammoniumacetat) über 45 min auf 52,5:47,5 geändert. Die Flussrate lag bei 80 µl/min, die Retentionszeit von Ertapenem bei 42 min.

Untersuchungsreihe Meropenem

HPLC für Meropenem:

Serumprobenvorbereitung: Es wurden 250 µl Serum mit 750 µl Iso-Propanol zur Proteinfällung kurz gevortext, anschließend 5 min bei 6000 g zentrifugiert, der Überstand in Stickstoffstrom eingedampft und in 100 µl HPLC-Wasser aufgenommen. 20 µl des resultierenden Überstands wurden der HPLC-Analyse zugeführt.

Pankreas-/Muskelgewebeprobenvorbereitung: Die Gewebeproben wurden zunächst mit physiologischer NaCl-Lösung 1:1 w/v auf Eis homogenisiert. Hiervon wurden 125 µl mit 375 µl Iso-Propanol versetzt und wie die Serumproben weiter behandelt.

Die Konzentrationsbestimmungen für Meropenem wurden mittels einer ebenfalls am Institut für Klinische Pharmakologie der Universität Rostock entwickelten Variante der Methode zur Quantifizierung von Ertapenem mit UV-Detektion bei 298 nm durchgeführt. Die Analyse erfolgte bei 25°C unter Verwendung einer 125 x 3 mm Hypersil® ODS 120-3 Doppelsäule der Firma Macherey und Nagel, Düren bei einer höheren Flussrate von 200 µl/min und einer dementsprechend verkürzten Retentionszeit von 4,5 min.

2.3 Verwendete statistische Verfahren

Die Mittelwerte aus den einzelnen Messreihen der Antibiotikakonzentrationen in Serum und Gewebe ergaben sich aus der Formel:

$$\text{Mittelwert: } \frac{\sum x}{n}$$

Die Standardabweichung der Mittelwerte errechnete sich aus der Formel:

$$\text{Standardabweichung } s = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n-1}}$$

Zum Herausarbeiten signifikanter statistischer Unterschiede der Mittelwerte zwischen Pankreatitis- und Kontrollgruppe erfolgte der t-Test nach Student mit $p < 0,05$.

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit der Software von Microsoft-EXCEL[®].

3 Ergebnisse

Aufgrund frühzeitig verstorbener Tiere konnte nicht immer die volle Anzahl geplanter Tiergewebeproben ausgewertet werden (Tabelle 2, Tabelle 3). Ursachen für den Exitus vereinzelter Tiere sind in Folge der ausgelösten nekrotisierenden Pankreatitis oder in seltenen Narkosezwischenfällen zu suchen.

Untersuchungsreihe Ertapenem

Insgesamt konnten für Ertapenem aus der ANP-Gruppe 28 Tiere in die Auswertung einfließen (Tabelle 2).

Die Anzahl der untersuchten Kontrolltiere (K-Gruppe) belief sich auf n = 25 (Tabelle 2).

Tabelle 2: Übersicht über die Gruppeneinteilung der Ertapenem-Tiere (ANP: akut-nekrotisierende Pankreatitis/“Olivenölpankreatitis”; K: Kontrolle, keine Olivenölinjektion); Zeit nach Gabe des Antibiotikums am 2. Versuchstag

Zeit nach Gabe	10 Minuten		30 Minuten		60 Minuten		240 Minuten	
Gruppe	ANP	K	ANP	K	ANP	K	ANP	K
Anzahl der Tiere	9	7	9	7	9	7	9	7
Nicht auswertbar	2	1	3	2	2	-	1	-
Auswertbar	7	6	6	5	7	7	8	7

Untersuchungsreihe Meropenem

Für Meropenem flossen 33 ANP-Tiere in die Auswertung ein.

Insgesamt 23 K-Tiere standen für eine Beurteilung zur Verfügung (Tabelle 3).

Tabelle 3: Übersicht über die Gruppeneinteilung der Meropenem-Tiere (ANP: akut-nekrotisierende Pankreatitis/“Olivenölpankreatitis”; K: Kontrolle, keine Olivenölinjektion), Zeit nach Gabe des Antibiotikums am 2. Versuchstag

Zeit nach Gabe	10 Minuten		30 Minuten		60 Minuten		120 Minuten	
Gruppe	ANP	K	ANP	K	ANP	K	ANP	K
Anzahl der Tiere	10	7	9	7	9	7	9	7
Nicht auswertbar	2	1	1	2	1	1	-	1
Auswertbar	8	6	8	5	8	6	9	6

3.1 Ergebnisse der pathologischen Gewebeparameter

Übersichten zur makro- und mikroskopischen Beurteilung sowie die Ergebnisse der Amylase- und Lipasebestimmungen der einzelnen Proben befinden sich im Anhang (Anhang 1 - 4).

3.1.1 Makroskopische Befunde

Untersuchungsreihe Ertapenem

Der makroskopische Operationsbefund zeigte für die Untersuchungsreihe Ertapenem fünfmal Stadium I (ödematös verquollenes Pankreas, keine sichtbar nekrotischen Areale), elfmal

Stadium II (ödematös verquollenes Pankreas, vereinzelt kleine nekrotische Areale) und zwölfmal Stadium III (großflächige grau-weissliche Nekroseherde sichtbar, Anhang 1).

Untersuchungsreihe Meropenem

In der Untersuchungsreihe Meropenem zeigten makroskopisch 13 Tiere Stadium I, 20 Tiere ließen sich Stadium II zuordnen (Anhang 2).

Bei den Kontrolltieren beider Gruppen (Untersuchungsreihe Ertapenem sowie Untersuchungsreihe Meropenem) fanden sich 24 h post operationem makroskopisch unauffällige Befunde mit reizlosen Verhältnissen an Bauchspeicheldrüse, Dünndarm und Peritoneum. Eine Ausnahme ist Probe K16 der Untersuchungsreihe Ertapenem. Hier wurde makroskopisch ein Stadium II festgestellt.

3.1.2 Histologische Befunde

Zur histologischen Begutachtung wurden stichprobenartig Pankreasgewebeproben von ANP- und K-Tieren entnommen.

Die Anhänge 5 und 6 zeigen beispielhaft den histologischen Zustand eines akut entzündeten und eines gesunden Rattenpankreas.

Untersuchungsreihe Ertapenem

Alle acht begutachteten Pankreasgewebeproben von ANP-Tieren (zwei pro Entnahmezeitpunkt) boten histologische Veränderungen im Rahmen eines Entzündungsgeschehens. In zwei Fällen traten deutliche Nekroseherde auf, die in einem Fall (Probe ANP4) in der makroskopischen Begutachtung nicht erkennbar war (Anhang 1).

Von den fünf entnommenen Gewebeproben aus der K-Gruppe ergaben vier einen histologisch unauffälligen Befund. In einer Probe (K16), die makroskopisch mit Stadium II auffällig

geworden war, konnte auch histologisch eine deutliche Entzündung mit Fettgewebstekrosen bestätigt werden.

Untersuchungsreihe Meropenem

Die begutachteten acht Pankreasgewebeprouben der ANP-Gruppe zeigten überwiegend histologische Veränderungen im Sinne eines Ödems. In Probe ANP23 und ANP68 konnten ein akutes Entzündungsgeschehen sowie Fettgewebstekrosen diagnostiziert werden.

Die zwei Gewebeprouben der K-Gruppe zeigten normales Pankreasgewebe, in Probe K16 fand sich leicht ödematöses Gewebe.

3.1.3 Amylase und Lipase im Serum

Untersuchungsreihe Ertapenem

Für ANP-Tiere wurden Serumamylasewerte zwischen 1390 und 14952 U/l ermittelt. Lipasewerte reichten in dieser Tiergruppe von 5,7 bis 78,9 U/l. Der Mittelwert \pm Standardabweichung (MW \pm Stabw) für Amylase lag bei $4424,7 \pm 3076,0$ U/l, für Lipase bei $20,59 \pm 20,2$ U/l.

In der K-Gruppe lagen die Ergebnisse für Amylase zwischen 725 und 5615 U/l (MW \pm Stabw $1507,4 \pm 1018,8$ U/l), für Lipase zwischen 7,9 und 9,7 U/l (MW \pm Stabw $8,51 \pm 0,46$ U/l).

Die Unterschiede zwischen ANP- und K-Gruppe waren sowohl für die Amylase als auch für die Lipase statistisch hoch signifikant.

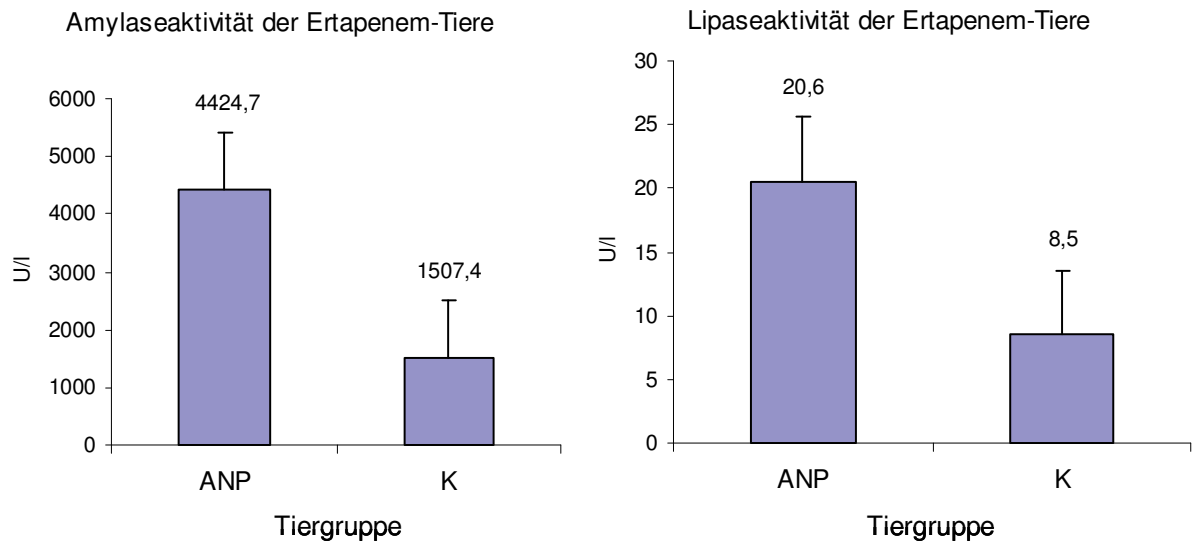


Abb. VII: Amylase- und Lipaseaktivität im Serum der Ertapenem-Tiere 24 h nach Olivenölinjektion (ANP) bzw. chirurgischer Darstellung des Pankreas (K); signifikanter Unterschied ($p < 0.05$) zwischen ANP und K.

Untersuchungsreihe Meropenem

In der ANP-Gruppe wurden Amylaseaktivitäten zwischen 1071 und 8337 U/l (MW \pm Stabw $3055,4 \pm 1958,2$ U/l) ermittelt. Serumwerte für Lipase waren in dieser Versuchsreihe zwischen 272 (maximal) und 5 U/l (minimal) angesiedelt. Der MW \pm Stabw betrug $36,4 \pm 33,2$ U/l.

In der K-Gruppe lagen die Ergebnisse für Amylase zwischen 798 und 1869 U/l (MW \pm Stabw $1133,1 \pm 206,0$ U/l), für Lipase zwischen 5 und 11 U/l (MW \pm Stabw $6,12 \pm 1,52$ U/l).

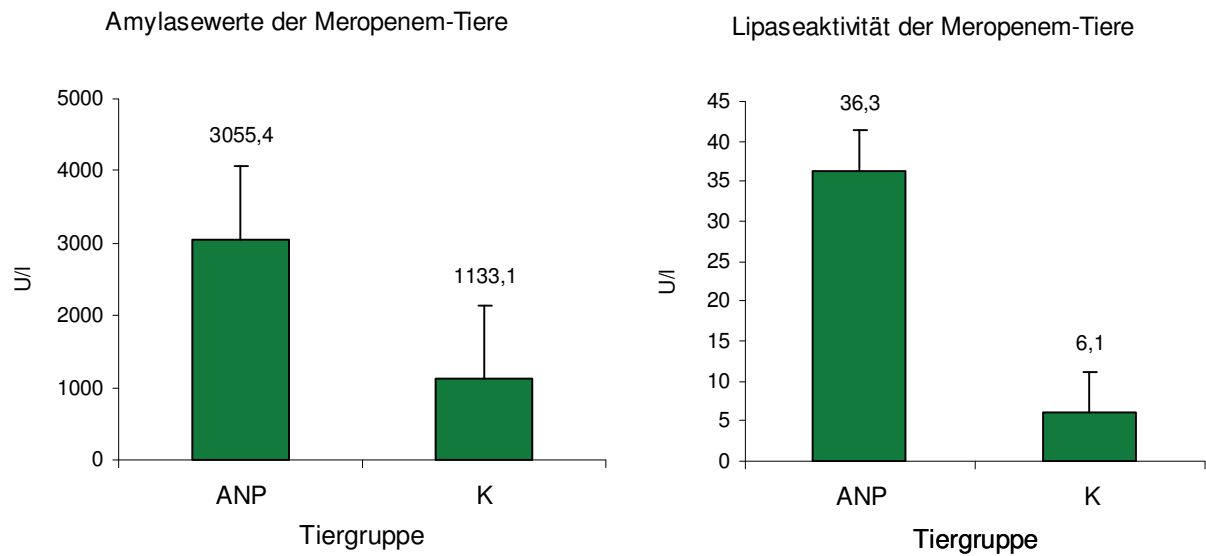


Abb. VIII Amylase- und Lipaseaktivität im Serum der Meropenem-Tiere 24 h nach Olivenölinjektion (ANP) bzw. chirurgischer Darstellung des Pankreas (K); signifikanter Unterschied ($p < 0.05$) zwischen ANP und K.

Die Unterschiede für Amylase und Lipase waren für ANP- und Kontrollgruppe statistisch hoch signifikant.

3.2 Ertapenem und Meropenem in Serum und Gewebe der Ratte

Die Einzelwerte der Konzentrationsmessungen in Serum, Pankreas- und Muskelgewebe für Ertapenem (HPLC und Bioassay) und Meropenem (HPLC) sind in Anhang 7 und Anhang 8 zusammengefasst.

3.2.1 Antibiotikakonzentrationen im Serum

Untersuchungsreihe Ertapenem

Mittelwerte, Standardabweichung und Ergebnisse der t-Tests für die Serumkonzentrationen von Ertapenem sind in Tabelle 4 zusammengefasst, die Einzelwerte können Anhang 7 entnommen werden.

Abbildung IX fasst die berechneten Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (Stabw) zusammen.

Die mittlere Serumkonzentration für Ertapenem lag 10 min post applicationem in der ANP-Gruppe bei (MW \pm Stabw) $29,9 \pm 12,7$ mg/l; Einzelwerte lagen zwischen 5,16 und 46,31 mg/l. In der Kontrollgruppe betrug die mittlere Serumkonzentration $32,6 \pm 5,8$ mg/l (Einzelwerte von 25,53 bis 41,31 mg/l). Nach 30 min lag der mittlere Serumspiegel/Stabw bei $10,2 \pm 6,3$ mg/l (ANP-Tiere, Einzelwerte zwischen 2,08 und 26,8 mg/l) sowie $17,9 \pm 7,5$ mg/l (K-Tiere; Maximum 30,08, Minimum 12,18 mg/l). 60 min post applicationem betrug der MW \pm Stabw in der ANP-Gruppe $7,3 \pm 4,9$ mg/l, in der K-Gruppe $8,6 \pm 3,6$ mg/l. Einzelwerte lagen zwischen 12,80 und 0,69 mg/l (ANP-Gruppe) bzw. zwischen 13,90 und 4,33 mg/l (K-Gruppe). Nach 240 min waren kaum noch Ertapenemkonzentrationen zu ermitteln. Der MW \pm Stabw lag bei $0,04 \pm 0,04$ mg/l (ANP-Gruppe) mit Einzelwerten > 0 mg/l bei 4 Tieren (0,10 bis 0,05 mg/l). In der Kontrollgruppe war Ertapenem in keiner Probe nachweisbar.

Tabelle 4: Ertapenemkonzentrationen im Serum der Ratte (MW \pm Stabw) 24 h nach Auslösung einer akuten Pankreatitis und i.v. Gabe von 10 mg/kg KG Ertapenem (p: t-Test für zwei Stichproben ungleicher Varianz)

Ertapenemkonzentrationen im Serum (mg/l)		10 min post applicationem	30 min post applicationem	60 min post applicationem	240 min post applicationem
ANP-Tiere	MW Stabw.	29,94 (12,71)	10,24 (6,33)	7,28 (4,92)	0,04 (0,04)
K-Tiere	MW Stabw.	32,63 (5,79)	17,93 (7,50)	8,60 (3,63)	n.n.
p-Wert (ANP vs K)		0,687	0,097	0,577	-

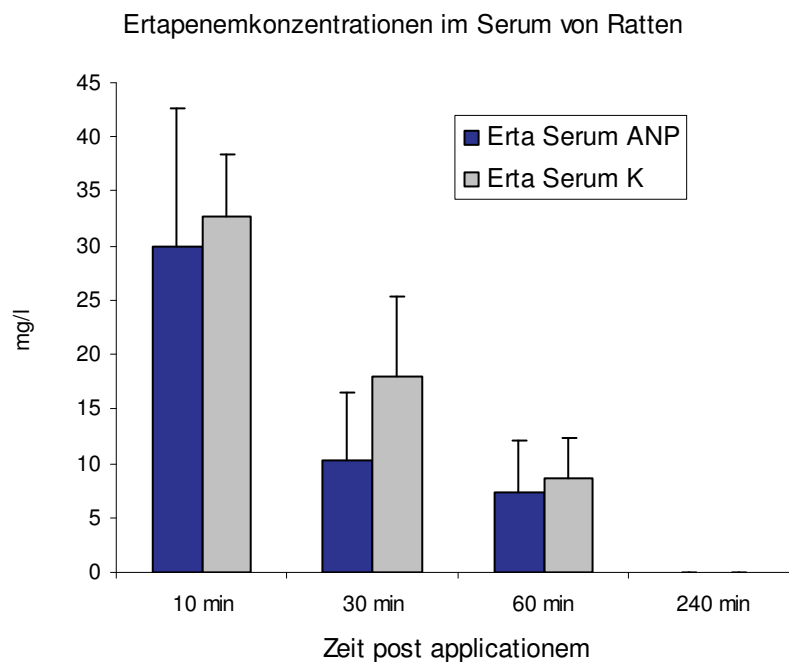


Abb. IX Ertapenemkonzentrationen im Serum der Ratte (MW \pm Stabw) 24 h nach Auslösung einer akuten Pankreatitis und i.v. Gabe von 10mg/kg KG Ertapenem; Gegenüberstellung der jeweiligen Pankreatitis- und Kontrollgruppe

Untersuchungsreihe Meropenem

Die mittleren Serumkonzentrationen für Meropenem sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Anhang 8 berücksichtigt die einzelnen Messergebnisse je Tier.

Tabelle 5: Meropenemkonzentrationen im Serum der Ratte (MW \pm Stabw) 24 h nach Auslösung einer akuten Pankreatitis und i.v. Gabe von 20 mg/kg KG Meropenem (p: t - Test für zwei Stichproben ungleicher Varianz)

Meropenemkonzentrationen im Serum (mg/l)				
	10 min post applicationem	30 min post applicationem	60 min post applicationem	120 min post applicationem
ANP-Tiere MW Stabw.	21,23 10,05	1,85 2,79	0,30 0,56	2,35 1,59
K-Tiere MW Stabw.	25,37 6,05	0,59 0,60	1,87 0,95	2,29 1,34
p-Wert (ANP vs. K)	0,391	0,252	0,001	0,938

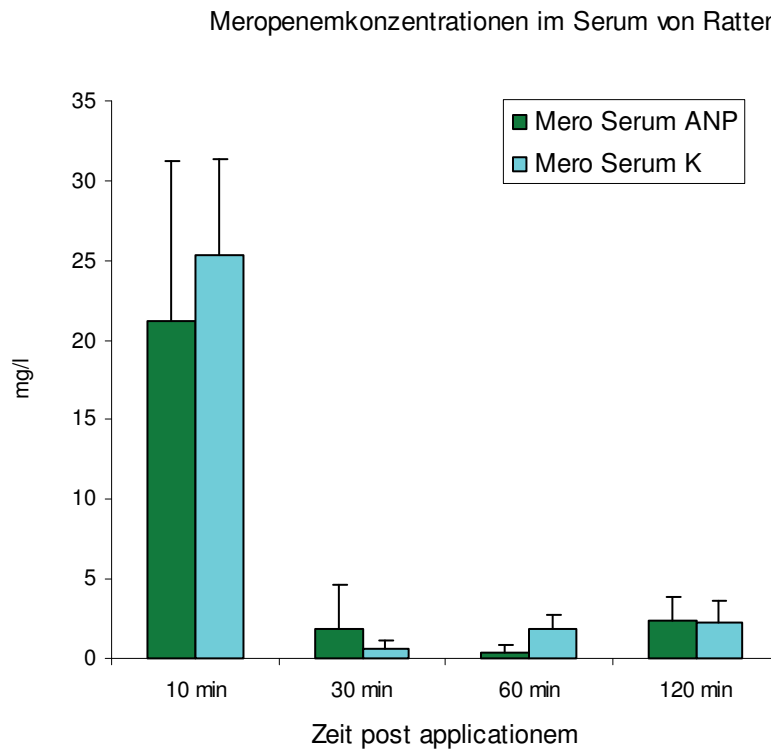


Abb. X Meropenemkonzentrationen im Serum der Ratte (MW \pm Stabw) 24 h nach Auslösung einer akuten Pankreatitis und i.v. Gabe von 20 mg/kg KG Meropenem; Gegenüberstellung der jeweiligen Pankreatitis- und Kontrollgruppe

Die mittlere Serumkonzentration für Meropenem lag 10 min post applicationem (MW \pm Stabw) bei $21,2 \pm 10,1$ mg/l (ANP-Gruppe, Einzelwerte zwischen 34,9 und 4,5 mg/l) und $25,4 \pm 6,1$ mg/l (K-Gruppe; Einzelwerte zwischen 32,6 - 14,5 mg/l).

30 min post applicationem lag eine Konzentration von im Mittel \pm Stabw $1,9 \pm 2,8$ mg/l (ANP-Tiere, Einzelwerte zwischen 8,55 mg/l und 0 mg/l), sowie von $0,6 \pm 0,6$ mg/l (K-Tiere) vor.

Anzumerken ist, dass durch vorzeitigen Exitus in der K-Gruppe nur 5 von 7 Tieren in die Untersuchung einfließen (siehe Tabelle 3). Bei 2 Tieren konnte im Serum kein Meropenem nachgewiesen werden. Nimmt man diese 2 Tiere aus den Berechnungen heraus, bliebe eine sehr kleine Gruppe von 3 Tieren übrig, deren Mittelwert bei 0,99 mg/l läge (Maximum 1,36 mg/l, Minimum 0,62 mg/l).

60 min post applicationem lag der MW \pm Stabw bei $0,3 \pm 0,6$ mg/l (ANP-Gruppe); in der K-Gruppe bei $1,9 \pm 1,0$ mg/l mit Einzelwerten zwischen 2,66 und 0,0 mg/l.

120 min post applicationem schwankten die Werte um $2,4 \pm 1,6$ mg/l (ANP-Gruppe) bzw. $2,3 \pm 1,3$ mg/l (K-Gruppe). Die Spanne reichte von 4,46 bis 0,0 mg/l (ANP-Gruppe) und 3,98 - 0,0 mg/l (K-Gruppe).

3.2.2 Antibiotikakonzentrationen im Pankreasgewebe

Untersuchungsreihe Ertapenem

In keiner der Pankreasgewebeproben aus der Messreihe für Ertapenem (ANP-Tiere und K-Tiere) konnte mittels HPLC eine Ertapenemkonzentration gemessen werden. Entsprechende Ergebnisse lieferte der Agardiffusionstest, ein methodisch vollkommen anderes Messverfahren. Lediglich sechs Proben der ANP-Tiere sowie eine einzelne K-Probe erbrachten positive Werte zwischen 3,0 und 0,2 mg/kg (siehe Anhang 7).

Untersuchungsreihe Meropenem

Die für Meropenem ermittelten Einzelwerte jeder Messreihe (HPLC-Methode) sind in Anhang 8 nachzulesen.

Tabelle 6 fasst die berechneten Mittelwerte \pm Standardabweichung (MW \pm Stabw) zusammen.

Nach 10 min lagen die mittleren Pankreasgewebekonzentrationen (\pm Stabw) bei $1,8 (\pm 0,8)$ mg/kg (ANP-Gruppe, Max / Min = 3,24 / 0,8 mg/kg) und $1,1 \pm 0,6$ mg/kg (K-Gruppe, Max / Min = 2,22 / 0,48 mg/kg). 30 min post applicationem lag der MW \pm Stabw bei $2,7 \pm 1,2$ mg/kg (ANP-Gruppe, Einzelwerte reichten von 4,38 bis 1,18 mg/kg) bzw. $0,7 \pm 0,4$ mg/kg (K-Tiere, Einzelwerte reichten von 1,06 bis 0,0 mg/kg). 60 min post applicationem lag der MW \pm Stabw bei $2,1 \pm 1,6$ mg/kg (ANP-Gruppe, Max. 4,2 mg/kg, Min. 0,0 mg/kg) und $0,8 \pm 0,1$ mg/kg (K-Gruppe, Einzelwerte von 1,02 bis 0,62 mg/kg). Nach 120 min hatten die Gewebeproben der

ANP-Tiere eine mittlere Antibiotikakonzentration \pm Stabw von $3,8 \pm 1,9$ mg/kg (max. 6,4; min. 1,56 mg/kg); in der K-Gruppe $1,2 \pm 0,3$ mg/kg (maximal bei 1,66, minimal bei 0,92 mg/kg).

In der Untersuchungsreihe besteht ein signifikanter Unterschied der Gewebekonzentration zwischen ANP-Gruppe und K-Gruppe ab 30 min nach Gabe von Meropenem.

Tabelle 6: Meropenemkonzentrationen im Pankreas der Ratte 24 h nach Auslösung einer akuten Pankreatitis und i.v. Gabe von 20 mg/kg KG Meropenem (p: t - Test für zwei Stichproben ungleicher Varianz)

Meropenemkonzentrationen im Pankreas (mg/kg)				
	10 min post applicationem	30 min post applicationem	60 min post applicationem	120 min post applicationem
ANP-Tiere MW Stabw.	1,76 0,82	2,74 1,16	2,09 1,63	3,82 1,91
K-Tiere MW Stabw.	1,12 0,59	0,66 0,40	0,75 0,14	1,16 0,29
p-Wert (ANP vs. K)	0,132	0,001	0,039	0,003

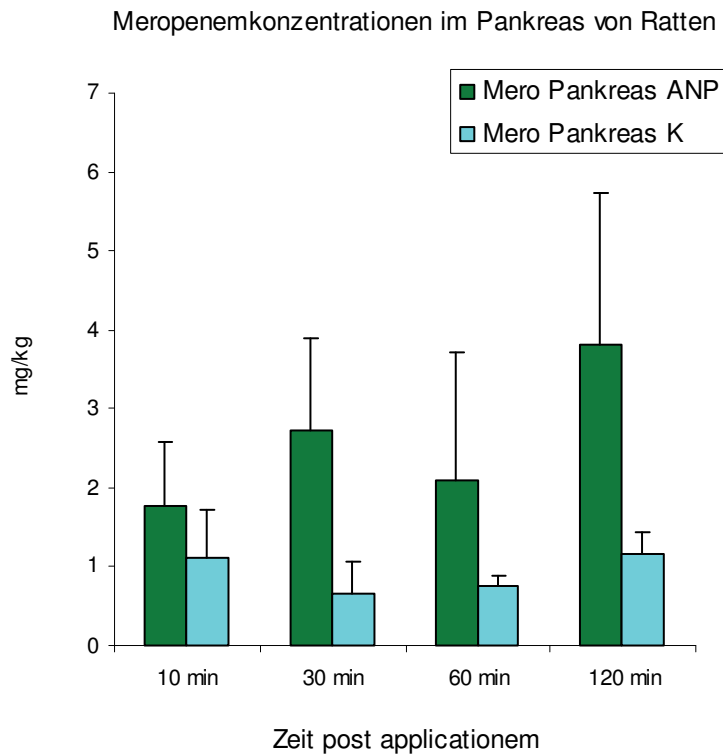


Abb. XI Meropenemkonzentrationen im Pankreas der Ratte (MW \pm Stabw) 24 h nach Auslösung einer akuten Pankreatitis und i.v. Gabe von 20 mg/kg KG Meropenem; Gegenüberstellung der jeweiligen Pankreatitis- und Kontrollgruppe

Untersuchungsreihe Ertapenem

Die vollständigen Konzentrationsbestimmungen (Bioassay) je Tier sind in Anhang 7 aufgeführt.

Die mittlere Muskelgewebekonzentration von Ertapenem 10 min post applicationem lag im Mittel \pm Stabw bei $1,3 \pm 0,6$ mg/kg (ANP-Gruppe, Marginalwerte bei 2,2 bzw. 0,6 mg/kg) und in der K-Gruppe um $1,1 \pm 0,3$ mg/kg (Spanne von 0,8 bis 1,4 mg/kg). Nach 30 min waren mittelwertig \pm Stabw in der ANP-Gruppe $0,7 \pm 0,3$ mg/kg bestimmbar (unterer Grenzwert 0,3, oberer Grenzwert 1,0 mg/kg); in der K-Gruppe $1,0 \pm 0,2$ mg/kg (Einzelwerte von 0,8 bis 1,2 mg/kg). 60 min post applicationem lag der MW \pm Stabw in der ANP-Gruppe bei $0,8 \pm 0,3$ mg/kg (Eckwerte 1,1 mg und 0,4 mg Ertapenem/kg Muskel); in der K-Gruppe bei $0,4 \pm 0,3$ mg/kg (Einzelwerte zwischen 0,8 und 0,0 mg/kg). 240 min post applicationem zeigten alle im

Bioassay untersuchten Muskelgewebeprobe auf den Agarplatten keinen Hemmhof. Die Konzentrationen wurden daher mit 0,0 mg/kg beziffert.

Tabelle 7: Ertapenemkonzentrationen im Muskel der Ratte (MW \pm Stabw) 24 h nach Auslösung einer akuten Pankreatitis und i.v. Gabe von 10 mg/kg KG Ertapenem (p: t - Test für zwei Stichproben ungleicher Varianz)

		Ertapenemkonzentrationen im Muskel (mg/kg)			
		10 min post applicationem	30 min post applicationem	60 min post applicationem	240 min post applicationem
ANP-Tiere	MW	1,27	0,67	0,76	0,00
	Stabw.	0,55	0,31	0,30	
K-Tiere	MW	1,13	1,00	0,40	0,00
	Stabw.	0,27	0,16	0,30	
p-Wert (ANP vs K)		0,597	0,057	0,069	-

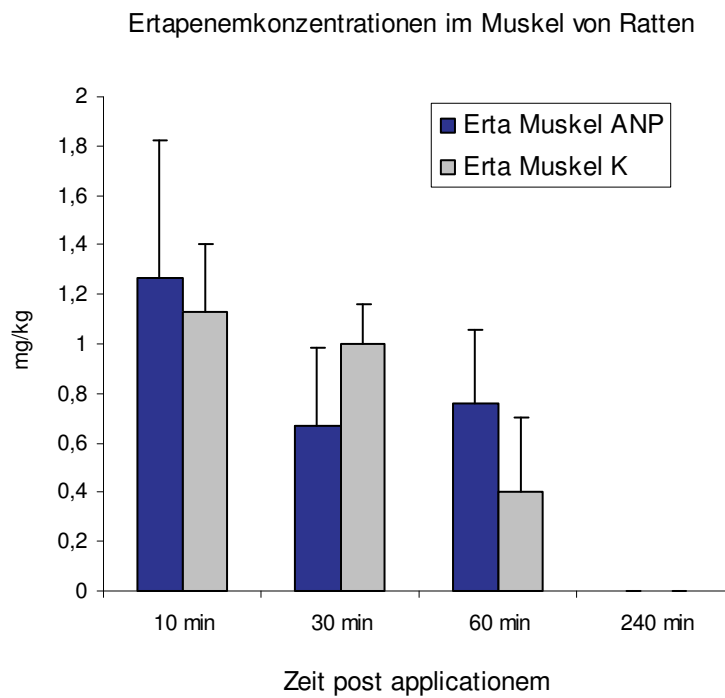


Abb. XII Ertapenemkonzentrationen im Muskel der Ratte (MW/Stabw) 24 h nach Auslösung einer akuten Pankreatitis und i.v. Gabe von 10 mg/kg KG Ertapenem; Gegenüberstellung der jeweiligen Pankreatitis- und Kontrollgruppe

Untersuchungsreihe Meropenem

Lediglich in drei der insgesamt 55 entnommenen Muskelgewebeproben konnte mittels HPLC eine Gewebekonzentration von jeweils 0,6 mg/kg ermittelt werden (K-Gruppe, 10 min nach Applikation von Meropenem; siehe Anhang 8).

4 Diskussion

Die Therapie der schweren akut-nekrotisierenden Pankreatitis zählt zu einer der wichtigen interdisziplinären Aufgaben der Medizin. Die hohe Letalität der Erkrankung (je nach Ausmaß der Nekrose > 50 %, Beger et al. 2002, Schmid/Uhl et al. 1999) ist meist bedingt durch Infektion und Keimbesiedlung des nekrotisch veränderten Organs sowie der retro- und parapankreatischen Nekrosen, zum Teil mit septischen Komplikationen. In der Folge kommt es bei schweren Verlaufsformen zu Sepsis und Multiorganversagen. Der präventive Einsatz von Antibiotika zur Senkung der Infektionsrate nekrotischer Areale und damit der Letalität beschäftigt seit Jahren viele Forschergruppen. Voraussetzungen für eine effiziente antimikrobielle Therapie sind die Auswahl des Arzneimittels gemäß dem Wirkspektrum sowie das Erreichen ausreichender Wirkstoffkonzentrationen am Ort der Infektion, die mindestens die Hälfte der vermuteten Erreger erreicht. Zahlreiche Studien seit den 1980er Jahren belegen, dass nicht alle Antibiotika gleichermaßen in das Pankreasgewebe penetrieren (siehe Kapitel 1.4.1). Für die Therapie der akut nekrotisierenden Pankreatitis hat sich in der Klinik bisher Imipenem, ein β -Laktam Antibiotikum aus der Gruppe der Carbapeneme, etabliert. Es konnte gezeigt werden, dass unter Imipenem z.B. im Vergleich zu Fluorchinolonen, septische Komplikationen im Rahmen der Erkrankung in geringerer Anzahl auftraten. Alternativ stehen laut DeCampos et al. (2006) Ciprofloxacin in Kombination mit Metronidazol zur Verfügung. Für Ciprofloxacin und Metronidazol konnte bisher kein positiv-prophylaktischer Effekt im Rahmen der akut nekrotisierenden Pankreatitis gezeigt werden (siehe Kapitel 1.4, Bassi et al. 1998, Buchler et al. 1992, Isenmann et al. 2004, Maravi-Poma et al. 2003).

Als relativ neue Carbapeneme sind Meropenem (seit 1998) und Ertapenem (seit 2002) auf dem deutschen Markt zugelassen. Durch eine verlängerte Halbwertszeit gegenüber Imipenem sowie einem verbesserten Spektrum unerwünschter Arzneimittelwirkungen sind sie für die klinische Handhabung attraktiv. Sowohl Meropenem als auch Ertapenem benötigen keine Kombination mit einem Dihydropeptidase-I Hemmer Cilastatin wie dies z.B. im Präparat Zienam[®] erforderlich ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Penetrationsfähigkeit von Ertapenem und Meropenem in das Pankreas der Ratte untersucht. Dazu fanden Antibiotikakonzentrationsbestimmungen in

Serum, Pankreasgewebe- und Muskelgewebeproben statt. Die Muskelgewebeproben dienen als Vergleichsgewebe, in welches Pharmaka relativ leicht diffundieren können. Für das Pankreas zeichnet sich, zumindest für die Arzneimittelgruppe der Antibiotika, eine Zuordnung dieses Organs in ‚specialized sites‘ ab. Dem gegenüber stehen Gewebetypen ohne besondere Penetrationsbarrieren zwischen Serum und Gewebe, die als ‚ordinary sites‘ bezeichnet werden (Barza 1981). Wie zahlreiche Studien bisher ergaben (u.a. Buchler et al. 1992, Drewelow et Koch 1989, Burns et al. 1986,), existiert eine ‚Blut-Pankreas-Schranke‘, ähnlich der des zentralen Nervensystems (ZNS), der Prostata oder des Glaskörpers des Auges (Davey 1990).

Der direkte Vergleich der Antibiotikakonzentrationen in gesundem und entzündetem Pankreasgewebe in dieser Arbeit sollte Aufschluss über die Permeabilitätsverhältnisse von Ertapenem und Meropenem in nekrotisches sowie gesundes Pankreasgewebe geben.

Die Übertragung von Tierversuchen auf den Menschen ist nur bedingt möglich. Die Ergebnisse können jedoch als Orientierung für klinische Studien dienen.

4.1 Das Tiermodell der akut nekrotisierenden Pankreatitis

Das in der vorliegenden Arbeit verwendete Tierversuchsmodell zur Induktion einer akut nekrotisierenden Pankreatitis der Ratte durch retrograde Olivenölinjektion wurde bereits 1856 von Bernard experimentell eingesetzt. Wanke et al. beschreiben und standardisierten dieses Modell 1966/1968. Es hat sich seitdem in der experimentellen Praxis bewährt (Mössner 1995), ist relativ leicht durchführbar und kostengünstig (Niederau et al. 1986, Lerch et Adler 1994). Daneben existieren weitere tierexperimentelle Modelle zur Auslösung einer akuten Pankreatitis an der Ratte, je nach gewünschtem Untersuchungsschwerpunkt. Einen Überblick dazu geben u.a. Merkord (2003) und Nizze (1980), sowie Mössner (1995) in seiner Publikation ‚Erkrankungen des exkretorischen Pankreas‘. Die kritische Frage der Übertragbarkeit von tierexperimentellen Untersuchungen auf den Menschen beantworten die oben genannten Autoren positiv. Das Pankreas liegt bei der Ratte im Gegensatz zum Menschen als diffuses Gewebe vor; zentroazinäre Zellen fehlen (Wanke 1968). In seiner physiologischen Funktion ist

das Pankreas der Ratte dem menschlichem Organ jedoch sehr ähnlich. Elsner erwähnt in seinem kritischen Artikel über Tierversuche im Deutschen Ärzteblatt 2004, dass Mäuse und Ratten für toxikologische Studien ‚besonders gute Übertragungswerte ergeben‘.

4.1.1 Makroskopische und histologischen Begutachtung

Die makroskopische Bewertungsskala des Pankreas der relaparotomierten Tiere am zweiten Versuchstag orientierte sich an den von Wanke et al. 1966 beschriebenen drei Stadien einer Pankreatitis der Ratte nach Olivenölinjektion (siehe Tabelle 1). Die humane Pankreatitis wird in ähnliche Stadien eingeteilt, was eine Übertragung des Tierversuchsmodells auf den Menschen erleichtert.

Die mikroskopische Begutachtung der stichprobenartig ausgewählten Pankreasgewebepreparate untermauerte die jeweils makroskopisch festgestellte Diagnose und Stadieneinteilung.

Die makroskopisch und mikroskopisch erhobenen Befunde der K-Tiere waren unauffällig (Anhang 1-2). Die bei zwei K-Tieren diagnostizierten Entzündungszeichen können auf die Traumatisierung durch Laparotomie der Tiere zurückgeführt werden.

4.1.2 Amylase- und Lipaseaktivität im Serum

In beiden Untersuchungsreihen, sowohl mit Ertapenem als auch mit Meropenem, sind Serumamylase- und Lipaseaktivität der Tiere mit induzierter Pankreatitis statistisch signifikant erhöht. Lipase gilt als pankreasspezifisches Enzym und gelangt nur bei geschädigtem Gewebe in die Blutbahn. Bei gesunden Individuen lässt sich keine Lipaseaktivität im Serum nachweisen. Erhöhte Gesamtamylasewerte im Serum sprechen nicht zwangsläufig für ein pathologisches Pankreasgeschehen, da mehrere Isoenzyme existieren. Beim Menschen korreliert die Höhe der Amylase- und Lipasewerte dabei nicht mit der ‚Schwere und Prognose der Erkrankung‘ (Herold 2001, Beger et al. 2003).

Die makro- und mikroskopischen Befunde sowie die Enzymdiagnostik erlauben die eindeutige Differenzierung von Tieren mit gesundem und akut entzündetem Pankreasgewebe.

4.2 Serum- und Gewebekonzentration von Ertapenem und Meropenem bei Ratten mit einer akut nekrotisierenden Pankreatitis und gesunden Kontrolltieren

4.2.1 Serumkonzentrationen

Untersuchungsreihe Ertapenem

Die für Ertapenem ermittelten Serumkonzentrationen (HPLC) 10, 30, 60 und 240 min post applicationem sind in Tabelle 4 (siehe Kapitel 3.2.1) aufgelistet. Ein signifikanter Unterschied zwischen den ANP-Tieren und den entsprechenden K-Tieren besteht zu keinem Zeitpunkt der Messreihe.

Die gemessenen Serumkonzentrationen (MW 10,24 mg/l ANP-Tiere bzw. MW 17,93 mg/l K-Tiere) 30 min nach Injektion von Ertapenem entsprechen in etwa den von Wong et al. (2004) publizierten Größenordnungen. In einer von Gill et al. 1998 veröffentlichten Studie finden sich 30 min post injectionem Plasmaspiegel von 66,6 mg/l, was deutlich über den in dieser Arbeit ermittelten Werten liegt. Gill verabreichte in seiner Arbeit den Ratten eine Kombination aus Ertapenem und Cilastatin. Cilastatin hemmt Dihydropeptidase-I (DHP-I), ein Enzym welches für den Abbau der Carbapeneme verantwortlich gemacht wird. Die höhere Serumkonzentration in seiner Arbeit ist damit zum Teil erklärbar.

Die Serumkonzentrationen überschreiten die laut Fachinformation Invanz[®] angegebene minimale Hemmkonzentration (MHK) von ≤ 4 mg/l für sensible Keime deutlich. Nach 240 min liegt die Serumkonzentration mit MW 0,04 mg/l unter diesem Richtwert. Im Rahmen des Pankreatitisgeschehens finden sich meist Methicillin-sensible Staphylokokken einschl. *Staph. aureus*, *Enterobacter* spp., *Escheria coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. sowie Anaerobier. Von

einer effektiven Keimbekämpfung im Serum durch Ertapenem kann daher grundsätzlich ausgegangen werden.

Untersuchungsreihe Meropenem

Die Serumkonzentrationen von Meropenem lassen tendenziell eine zeitabhängige Konzentrationsabnahme in der Messreihe von 10 zu 120 min nach i.v. Gabe von 20 mg/kg KG erkennen. Dieser besteht sowohl bei den ANP-Tieren als auch bei den K-Tieren; ein statistisch signifikanter Unterschied besteht nicht (siehe Kapitel 3.2.1 Tabelle 5). Von vergleichbaren Daten zur Serumkonzentration von Meropenem berichten Harrison et al. (1989) und Saglamkaya et al. (2002). Harrisons Messungen ergaben nach 60 min eine Serumkonzentration von 16,5 mg/kg Meropenem bei 6facher Dosierung in gesunden Ratten. Die Umrechnung auf eine Dosierung von 20 mg/kg KG ergibt eine Serumkonzentration von 2,75 mg/kg. In vorliegender Untersuchungsreihe wurde nach 120 min eine Serumkonzentration von 2,35 mg/kg für ANP-Tiere und 2,29 mg/kg für K-Tiere ermittelt. Die Messungen von Saglamkaya et al. ergaben eine Serumkonzentration von 6,95 mg/kg nach 15 min in Kontrolltieren. In vorliegender Arbeit fanden sich nach 10 min 25,37 mg/kg Meropenem im Serum der K-Tiere sowie 0,59 mg/kg nach 30 min. Yoshida et al. (1993) berichten von maximalen Serumwerten zwischen 6,03 und 7,07 mg/l (15 min post applicationem von 20 mg/kg KG Meropenem).

Die MHK_{90} für sensible Keime im Rahmen des Pankreatitisgeschehens wie Staphylokokken einschließlich *Staph. aureus* (0,12 - 0,25 mg/l), *Enterobacter* spp. (0,06 - 1 mg/l), *Escheria coli* (0,02 - 0,03 mg/l), *Klebsiella* spp. (0,06 mg/l), *Proteus* spp. (0,12 - 0,13 mg/l), Anaerobier sowie *Enterococcus* spp. (8 mg/l) (Kitzes-Cohen et al. 2002, Shah et al. 2000, Greenhalgh et al. 1997) wird in dieser Untersuchung meist überschritten. Zahlreiche Studien und der klinische Einsatz belegen die Effektivität von Meropenem in der Therapie bakterieller Erkrankungen.

4.2.2 Pankreasgewebekonzentrationen

Untersuchungsreihe Ertapenem

Sowohl bei Tieren mit einer akut nekrotisierenden Pankreatitis als auch bei Tieren mit morphologisch unauffälliger Bauchspeicheldrüse konnte kein Ertapenem in den Pankreasgewebeproben nachgewiesen werden. In beiden Analyseverfahren (HPLC; Agar-Diffusionstest), die auf unterschiedlichen Messprinzipien beruhen, war das Ergebnis übereinstimmend.

Die Frage nach dem Penetrationsvermögen von Ertapenem in das Pankreas konnte somit nicht hinreichend geklärt werden.

Für die Carbapeneme Imipenem und Meropenem konnte in bisherigen Publikationen eine gute Pankreasgewebegängigkeit nachgewiesen werden (zusammenfassend: Pezzilli 2006). Das Ergebnis der Konzentrationen von Ertapenem in Pankreasproben dieser Arbeit überrascht daher. Eine mögliche Erklärung hierfür bieten die pharmakochemischen Eigenschaften von Ertapenem, welche die Gewebegängigkeit beeinflussen. Durch die hohe Plasmaeiweißbindung von Ertapenem (bis zu $\geq 95\%$, dosisabhängig; Drugs of Today 2002) wird eine relativ lange Plasmahalbwertszeit erreicht (Mensch: 4 h, meist an Albumin; Fachinformation Invanz®, Bradley et al. 1999). Dies bringt Vorteile im klinischen Alltag und wird für Ertapenem immer wieder hervorgehoben. Die hohe Plasmaeiweißbindung geht jedoch zulasten der Penetrationsfähigkeit des Wirkstoffes in Gewebe, da der Extrazellularraum meist proteinarm ist. Bei Entzündungsvorgängen sind jedoch auch im Extrazellularraum vermehrt Proteine zu finden (Nix et al. 2004, Nix et al. 1991, Cars 1990, Wise 1986).

Inwieweit sich die hohe Proteinbindung auf pharmakodynamische Eigenschaften einer Substanz auswirkt, ist bisher umstritten, da wohl nur der freie, ungebundene Anteil des Arzneimittels der β -Lactame an den Oberflächenrezeptor der Bakterien anheften kann (Nix et al. 2004, Hammond 2004, Mouton et al. 2000, Craig 1998). Nix erwähnt in seiner Arbeit 2004 weiterhin, dass Carbapeneme, neben Penicillinen, Cephalosporinen und Monobactamen, nur gegen Bakterien im Extrazellularraum wirksam sein können. Ertapenem diffundiert durchaus gut (dosisabhängig) in extrazelluläre Flüssigkeiten. Dies zeigen Studien von Nix et al. 1991, Burkhardt et al. 2006 sowie Mundkowski 2006, in denen Ertapenem in humanen (Haut)Blasenflüssigkeit, interstitieller Flüssigkeit und Lungengewebe nachgewiesen werden

konnte. Mouton et al. (2000) sprechen ebenfalls von einer wohl überwiegend extrazellulären Verteilung der Carbapeneme. Sie erwähnen die Schwierigkeiten des korrekten Nachweises, da in den Homogenaten der Gewebeproben nicht eindeutig identifizierbar ist, ob das Arzneimittel extrazellulär, intrazellulär oder in beiden Kompartimenten vorliegt. Die in dieser Arbeit verwendeten Proben sind ebenfalls ein Gemisch aus interstitiellem Bindegewebe, Blutresten, Pankreassaft, Gallengangsresten und gesunden sowie pathomorphologisch veränderten Pankreaszellen. Die Methode gilt dennoch als repräsentativ zur Darstellung pharmakokinetischer Unterschiede in der Organverteilung (Drewelow et Koch 1989, Koch et Drewelow 1991). Wie oben (Kapitel 2.1.3.2) erwähnt, wurden die Pankreas-diffusum-Gewebeproben sorgfältig aus dem Bauchraum der Ratte entfernt und vor der Konservierung auf Filterpapier von eventuellen Verunreinigungen durch Blut und Bindegewebe weitgehend gesäubert. Damit war möglicherweise ein Verlust an interstitieller Flüssigkeit verbunden, der die negativen Ergebnisse der Pankreasgewebeproben erklären könnte. Bisher existieren nur sehr begrenzt vergleichbare Gewebespiegelmessungen (Ratte, Maus). Gill et al. (1998) erhalten ebenfalls sehr geringe Serum/Geweberelationen für Niere, Lunge und Leber. Wong et al. konnten in ihrer Studie 2004 für die niedrigen Gewebespiegel aus Homogenaten von Lunge und Niere der Ratte das Vorhandensein von DHP-I in diesen Organen nachweisen. Dieses Enzym ist verantwortlich für den Hauptabbauweg der Carbapeneme im Organismus. Es öffnet den β -Lactam-Ring der Substanz und lässt somit unwirksame Metabolite entstehen. Beim Menschen befindet sich DHP-I nach derzeitigem Erkenntnisstand überwiegend in der Niere.

Für den Menschen konnten Wittau et al. 2006 das Vorhandensein von Ertapenem in menschlichem Pankreas bei zwei Patienten mit chronischer Pankreatitis (in ausreichender Konzentration für eine antibiotische Behandlung) bestätigen (48 Patienten mit unterschiedlichen abdominalen Erkrankungen insgesamt). Die Autoren machen die hohe Plasmaeiweißbindung für die ansonsten geringe Gewebepenetration von Ertapenem verantwortlich. Motamedi et al. (2006) konnten bei 13 Patienten mit chronischer Pankreatitis in 35-50% der Fälle relevante Ertapenemspiegel dedektieren. Wittau et al. und Motamedi et al. bestätigen eine gute Pankreasgewebegängigkeit für Ertapenem bei Patienten mit Pankreaskarzinom. Dies wird auf veränderte Mikrozirkulationsverhältnisse zurückgeführt. Für das Pankreatitis-Modell der Ratte konnte initial ein verminderter kapillärer Blutfluss nachweisen werden (Foitzik et al. 1997). Die im Plasma gelöste, hier überwiegend an Protein gebundene Substanz gelangt daher nur sehr begrenzt in das Pankreas. Bassi et al. (1994) und Gumaste (2000) berichten für das menschliche Pankreas gleichermaßen von einem deutlichen

(negativen) Effekt, den Nekroseherde und Entzündungsvorgänge auf das Penetrationsvermögen von Antibiotika haben.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ursachen für die fehlende Penetration von Ertapenem in das Pankreasgewebe mit dem vorliegend gewählten Versuchsansatz vor allem in den physikochemischen Eigenschaften, wie hohe Proteinbindung und Verteilung im Extrazellularraum, begründet sein könnte. Weitere Untersuchungen zu Konzentrationsbestimmungen in der interstitiellen Flüssigkeit sind naheliegend.

Untersuchungsreihe Meropenem

Die Pankreasgewebekonzentrationen von Meropenem sind in Tabelle 6, Kapitel 3.2.2 dargestellt. Die in der Gruppe der ANP-Tiere ermittelten Werte liegen dabei tendenziell über denen der K-Tiere, ein signifikanter Unterschied besteht ab 30 min post injectionem. Eine antibiotisch wirksame Konzentration von 4 mg/l (MHK für relevante Zielkeime) konnte in der ANP-Gruppe nach 120 min annähernd erreicht werden ($MW \pm Stabw$ $3,82 \pm 1,9$ mg/l).

Die oben erwähnten Beobachtungen zwischen Mouton et al. (2000) und Nix et al. (2004) erläutern den Zusammenhang der Plasmaproteinbindung und Penetrationsfähigkeit eines Antibiotikums. Die geringere Proteinbindung von Meropenem (2 % laut „Fachinformation Meronem[®]“, 9 % laut Mouton, 20 % laut Lowe et al.) macht die Gewebekonzentrationen erklärbar.

Für die K-Tiere finden sich in vergleichbaren Arbeiten ähnliche Werte u.a. bei Saglamkaya et al. (2002) und Harrison et al. (1989). Saglamkaya et al. berichten für Kontrolltiere 15 min nach i.v. Applikation von 20 mg/kg KG Meropenem über eine Gewebekonzentration von $2,26 \pm 0,52$ mg/l. Harrison et al. ermitteln im Pankreasgewebe 60 min nach i.v. Gabe von 120 mg/kg KG radioaktiv markiertem Meropenem eine mittlere Konzentration von $7,2 \pm 0,6$ mg/l. Für ANP-Tiere beschreiben Saglamkaya et al. 6 h nach Antibiotikagabe Werte zwischen $6,56 \pm 0,96$ mg/l.

4.2.3 Muskelgewebekonzentrationen

Die Messungen von Muskelgewebekonzentrationen dienen der Vergleichsmöglichkeit zwischen Penetrationsraten von Arzneimitteln in unterschiedliche Gewebetypen. Das Muskelgewebe weist neben z.B. Lungen- und Nierengewebe keine besonderen Penetrationsbarrieren zwischen Serum und Gewebe auf („ordinary sites“; Barza 1981). Durch fenestrierte Kapillare kann das Arzneimittel relativ ungehindert aus der Blutbahn in das entsprechende Gewebe diffundieren.

Untersuchungsreihe Ertapenem

Die mittleren Konzentrationen bewegen sich zwischen 1,27 mg/kg (ANP-Gruppe 10 min post applicationem) und 0,0 mg/kg (ANP- und K-Gruppe nach 240 min). Damit gelangen bis zu 10 % (ANP-Gruppe, 60 min post applicationem) der Serumkonzentration in das Muskelgewebe. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen ANP-Gruppe und K-Gruppe besteht nicht.

Für die Diffusion von Arzneimitteln aus dem Serum in Gewebe ist laut Burns et al. (1986) und Buchler et al. (1989) in dem Modell nach Barza (s.o.) die hohe Plasma-eiweissbindung von Bedeutung. Ertapenem ist in hohem Maße an Proteine gebunden. Im Rahmen von Entzündungsvorgängen kommt es zu Verschiebungen der Serumproteinfraktion, welche die tendenziell höheren Konzentrationen der ANP - Tiere erklären könnten.

Vergleichsdaten zu Gewebespiegeln für Ertapenem sind in der Literatur bisher nur sehr begrenzt verfügbar. Gill et al. (1998) berichten nach Versuchen an Maus und Ratte von sehr geringen Quotienten von Gewebe-/Serumkonzentration für Niere (5,6 %), Leber (4,7 %) und Lunge (6,2 %).

Untersuchungsreihe Meropenem

In den Muskelgewebeproben der Meropenem-Messreihe konnte in der überwiegenden Anzahl kein Meropenem nachgewiesen werden. Meropenem ist nur gering an Plasmaproteine gebunden. Dass bereits in der Messreihe von 10 min post injectionem des Arzneimittels kaum

Konzentrationspiegel von Meropenem bestimmbar sind, kann mit der kurzen Halbwertszeit von Meropenem zusammenhängen. Harrison et al. ermittelten 1989 in Versuchen mit radioaktiv markiertem [¹⁴C]-Meropenem eine Plasmahalbwertszeit von 6 min in Ratten nach Gabe einer Dosis von 120 mg/kg KG. Das prozentuale Konzentrationsverhältnis (Muskel/Serum) liegt bei Harrison nach 5 min bei 19,7 %.

Die in der vorliegenden Arbeit verabreichten 20 mg/kg KG Meropenem liegen weit unter der Dosierung von Harrison. Drei positive Werte in der Gruppe der Kontrolltiere (K12, K13, K16; 10 min post injectionem, siehe Kapitel 3.2) deuten darauf hin, dass in dieser Arbeit die Konzentration von Meropenem im Muskelgewebe möglicherweise nach 10 min bereits unter der Nachweisgrenze für HPLC lag. Eine erneute Messreihe mit einer Muskelprobenentnahmezeit von 5 min post applicationem des Antibiotikums könnte weitere Aufschlüsse geben.

4.3 Klinische Bedeutung

Im klinischen Alltag sind vor allem der potentielle Erfolg einer Therapie sowie ihre Umsetzbarkeit in die Praxis von Bedeutung. Bei der akut nekrotisierenden Pankreatitis werden mehrere Therapieansätze parallel verfolgt. Die Prophylaxe einer Infektion von Nekroseherden im Pankreasgewebe ist dabei ein wichtiger Aspekt. Es ist bekannt, dass septische Komplikationen bei infiziert-nekrotischer Bauchspeicheldrüse mit einer höheren Mortalität einhergehen als im steril-nekrotischen Pankreas. Isenmann und Beger nennen in ihrer 1999 veröffentlichten Studie einen Unterschied von 12,3 %, wobei das Risiko bei mehr als 30 % Nekrose im Organ am höchsten ist (Solomkin et al. 2003, Gloor et al. 2001). In Arbeiten von Bassi et al. 1998, Buchler et al. 1992, Isenmann et al. 2004 und Maravi-Poma et al. 2003 konnte gezeigt werden, dass unter Imipenem z.B. im Vergleich zu Flurorchinolonen, septische Komplikationen im Rahmen der Erkrankung in geringerer Anzahl auftraten. Für Ciprofloxacin und Metronidazol wurde bisher kein positiv-prophylaktischer Effekt im Rahmen der akut nekrotisierenden Pankreatitis beobachtet, sie kommen jedoch aufgrund ihres Wirkspektrums und Gewebegängigkeit in der Klinik ebenfalls zum Einsatz (siehe Kapitel 1.3.2, 1.4.2).

Durch die prophylaktische Gabe von Antibiotika konnten Pederzoli et al. 1993 in einer Studie mit Imipenem erstmals eine gesenkte Mortalität gegenüber einer Kontrollgruppe nachweisen. Den Grundstein zum heute üblichen Verfahren der systemischen Antibiose mit Imipenem zur Prophylaxe einer Infektion der akut nekrotisierenden Pankreatitis legte eine Multicenter-Studie von Bassi et al. 1998. Manes et al. konnten 2006 in einer Studie mit 215 Patienten zeigen, dass die frühe Gabe von Meropenem bei der akut nekrotisierenden Pankreatitis zu deutlich weniger septischen Komplikationen führte als eine zeitlich spätere Gabe (bei ähnlichen Mortalitätsraten in beiden Gruppen). Zu entsprechenden Ergebnissen kommen Mazaki et al. und Moyshevat et al. 2006. Villatoro et Bassi et al. 2006 zeigten eine signifikant gesenkte Mortalität und signifikant weniger infizierte Pankreasnekrosen unter β -Laktamtherapie. Laut Lankisch et al. (2006) sollte die tatsächliche Zahl der Patienten, die von einer antibiotischen Therapie profitieren, jedoch nicht überschätzt werden.

Unabhängig von den Überlegungen, inwieweit eine antibiotische Therapie bei akut nekrotisierender Pankreatitis überhaupt sinnvoll ist, müssen am Ort der Infektion ausreichend hohe Wirkstoffkonzentrationen erreicht werden (MHK). Diese liegen laut aktueller Fachinformation für Ertapenem Invanz® MSD und Meropenem Meronem® bei $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ für sensible Keime (Serum). Von Ertapenem nicht erfasst werden *Pseudomonas* spp. sowie *Enterococcus* spp. Für Imipenem und Meropenem konnten bisher ausreichend hohe Konzentrationen in Pankreasgewebe festgestellt werden. Die Datenlage zum Penetrationsvermögen des neueren Präparates Ertapenem in humanes Pankreasgewebe ist bisher noch sehr begrenzt.

Wittau et al. (2006) halten Ertapenem für geeignet in der Therapie von hepatisch-pankreatisch-biliären Infektionen. In ihrer Studie werden für Ertapenem nach Applikation von 1 g i.v. Plasmakonzentrationen von $C_{\text{max}} = 124,28 \text{ mg/l}$ ($\pm 55,4$) sowie Pankreasgewebekonzentrationen von mittelwertig $3,41 \text{ mg/kg}$ ($\pm 2,9$) ermittelt. Die MHK_{90} (in vitro) der aeroben und anaeroben Bakterien, wie z.B. *Streptokokken*, *Enterobacter*, *E.coli*, *Bacteroides fragilis* und *Clostridien* lag jeweils bei $0,06 - 2,0 \mu\text{g/ml}$ und wurde damit deutlich überschritten. Diese Studie basiert überwiegend auf Patienten mit Pankreaskarzinom. Unterschiedliche Stoffwechselvorgänge im Gegensatz zu einem akut-entzündlichen Geschehen sind nicht auszuschließen. So erreichen in einer Studie von Motamdi et al. (2006) nur ein Drittel der Patienten mit chronischer Pankreatitis die MHK im Pankreasgewebe.

Zur Beurteilung der potentiellen klinischen Wirkung von β -Lactam-Antibiotika ist die Zeitdauer oberhalb der MHK ($T > \text{MHK}$) im Dosierungsintervall ausschlaggebend (Andes et al. 1998, Craig 1998). Die Dosierung richtet sich dabei üblicherweise nach den Empfehlungen der Hersteller. Für Imipenem bedeutet dies vier Einzelgaben am Tag während für Meropenem drei tägliche Dosen nötig sind. Für Ertapenem ist die Einmalgabe täglich hinreichend. Wegen ihrer schnellen bakteriziden Wirkung halten Mouton et al. (2000) für die Carbapeneme eine $T > \text{MHK}$ (Plasma) von 30-40 % im Dosisintervall für ausreichend.

Für Meropenem, seit den 1990er Jahren auf dem Markt, existieren entsprechend mehr pharmakokinetische Daten. Spitzenkonzentrationen im Serum (C_{max}) liegen zwischen 25 - 27 mg/l nach langsamer Bolusinjektion von 50 mg Meropenem bzw. 53 - 62 mg/l für 1g Meropenem als Bolus (Tomaselli et al. 2004, Maglio et al. 2003, Hurst et al. 2000, Holliday et al. 1998, Wise et al. 1990, Fachinformation Meronem®). Lowe et al. beschreiben 2000 zusätzlich mittlere Konzentrationen in humanem Pankreasgewebe von 1,59 mg/kg (normales Gewebe) und 1,25 mg/kg (chronisch entzündlich verändertes Gewebe) 2,3 - 5,5 Stunden nach i.v.-Gabe von 1 g Meropenem. Annähernd ähnliche Werte werden in dieser Arbeit nach 10 min im Pankreasgewebe der Ratten erreicht (siehe Kapitel 3.2.2). Im menschlichem Muskelgewebe werden bei Tomaselli et al. (2004) 10 min nach i.v.- Infusion von 1 g Meropenem als maximale mittlere Konzentration $26,2 \pm 25,2$ mg/l erwähnt.

Abschließend kann festgestellt werden, dass der gewählte tierexperimentelle Ansatz dieser Arbeit zur Pharmakokinetik von Ertapenem und Meropenem keine eindeutige Aussage über das Penetrationsvermögen von Ertapenem in gesundes bzw. akut erkranktes Pankreasgewebe der Ratte erbrachte. Die Ursachen hierfür wurden ausführlich besprochen. Weiteren Fragestellungen dieser Arbeit konnte ausreichend nachgegangen werden (siehe Kapitel 1.6):

1. Beide Carbapeneme erreichen in Relation zu den korrespondierenden Plasmaspiegeln nur relativ geringe Gewebekonzentrationen.

Die Pankreasgewebekonzentrationen für Ertapenem waren in dem hier verwendeten Versuchsaufbau nicht bestimmbar. Muskelgewebekonzentrationen lassen sich vereinzelt messen, bis zu 10% (ANP-Gruppe, 60 min post applicationem) der Plasmakonzentration gelangen in das Muskelgewebe.

Für Meropenem lassen sich Pankreasgewebekonzentrationen bestimmen. Bis zu 8% der Plasmakonzentration gelangen in das Pankreasgewebe (ANP-Gruppe, 10 min post applicationem). Im Muskelgewebe wird kein Meropenem nachgewiesen.

Beim Vergleich der Gewebepenetration von gesundem und akut entzündlichem Pankreasgewebe ist für Ertapenem keine Aussage möglich. Für Meropenem besteht ein statistisch signifikanter Unterschied in der Pankreaskonzentration nach 30 min (ANP > K).

2. Alle Versuchstiere der ANP-Gruppe boten das Vollbild einer akut nekrotisierenden Pankreatitis. Eine Aussage zum Zusammenhang zwischen Nekroseausdehnung und Verteilung des Antibiotikums in das Pankreasgewebe ist anhand der Ergebnisse nicht möglich.
3. Für Ertapenem ließen sich keine Gewebekonzentrationen für das Pankreas bestimmen. Der MHK-Wert für klinisch relevante bakterielle Erreger bei akut-nekrotisierender Pankreatitis wird nicht erreicht.

Für Meropenem werden die erforderlichen Pankreasgewebekonzentrationen (MHK₉₀ für relevante Zielkeime) nach 120 min annähernd erreicht.

Die Übertragbarkeit von pharmakokinetischen Untersuchungen im Rahmen des Pankreatitisgeschehens von Ratte auf Mensch wird allgemein als gut eingeschätzt. Bisherige Studien selbiger Zielsetzung mit den beiden Carbapenemen Imipenem und Meropenem lieferten vergleichbare Daten für Ratte/Mensch. Für Ertapenem verdeutlichen inzwischen publizierte humane Daten von Wittau et al. 2006 und Motamedi et al. 2006 (Ertapenem und akute Pankreatitis) sowie Burkhardt et al. 2006 (Ertapenem und interstitielle Flüssigkeit), dass auch dieses Carbapenem potentiell antibiotisch wirksame Konzentrationen im Pankreasgewebe erreichen kann. Weitere Studien mit Fokus auf die Konzentration von Ertapenem in der interstitiellen Flüssigkeit könnten daher weiteren Aufschluss über die Penetration von Ertapenem in das Pankreasgewebe geben.

5 Zusammenfassung

Die Gruppe der Carbapeneme gehört aufgrund ihres guten pharmakologischen Profils zu einer wichtigen Gruppe der β -Laktam-Antibiotika. Aus der klinischen Praxis sind sie heute kaum wegzudenken. Mit Imipenem und Meropenem stehen zwei Breitspektrum-Antibiotika zur Verfügung, die sich unter anderem bei abdominalen Infektionen bewährt haben. Mit Ertapenem ist seit 2002 ein neues Präparat hinzugekommen. Kennzeichnend für Ertapenem ist eine relativ hohe Plasmaeiweißbindung. Hieraus resultiert eine deutlich verlängerte Plasmahalbwertszeit. Ertapenem besitzt ausreichend Stabilität gegenüber der renalen Dehydropeptidase-I (DHP-I). Meropenem und Ertapenem werden ohne Cilastatin, einem DHP-I Hemmstoff, verabreicht. Das Spektrum der unerwünschten Arzneimittelwirkungen konnte gegenüber Imipenem verbessert werden. Meropenem und Ertapenem sind weniger nephrotoxisch und besitzen kaum Krampfpotential; Übelkeit und Hautausschläge sind seltener. Aufgrund ihres Wirkspektrums und der guten Verträglichkeit kommen die Carbapeneme bei intraabdominalen Infektionen in Betracht.

Trotz allen Fortschritts der Medizin ist die Therapie der schweren akuten Pankreatitis bisher nur bedingt zufriedenstellend. Die Mortalität liegt bei 2 - 20 %. Während bei ca. 80 % der Patienten mit Pankreatitis die mild-ödematös, oft selbstlimitierende Verlaufsform auftritt, kommt es in 10 - 20 % der Fälle lokal zu infektiösen Komplikationen wie Nekrosen, Abszessbildung, retroperitonealen Phlegmonen und infizierten Pseudozysten. Die sekundäre bakterielle Infektion aufgetretener Nekroseherde im Pankreasgewebe ist dabei von besonderer prognostischer Bedeutung. Das Keimspektrum bilden dabei in erster Linie Keime der natürlichen Magen-Darm-Flora, wie *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. und *Enterobacter* spp. als gramnegative Keime sowie *Staphylococcus aureus ed epidermidis*, *Enterokokken* als grampositive Mikroorganismen und Anaerobier (Beger et al. 2002, Isenmann et al. 2001). Die Folge sind Sepsis und Multiorganversagen. Therapie der Wahl ist die schnelle operative Sanierung sowie eine systemische Antibiose. Überlegungen beziehen sich dabei auch auf den prophylaktischen Einsatz von Antibiotika bei Verdacht auf Nekrosen im Pankreasgewebe. Erste Studien belegen, dass eine Senkung der Infektionsrate möglich ist. Der Wahl eines geeigneten Präparates kommt dabei besondere Bedeutung zu. Neben dem Erregerspektrum

ist die Penetrationsfähigkeit in das betroffene Organ zu beachten. Es ist bekannt, dass nicht alle hochpotenten Breitspektrum-Antibiotika über vergleichbare pharmakokinetische Eigenschaften, insbesondere im Hinblick auf die Gewebepenetration, verfügen. Die Gruppe der Carbapeneme mit Imipenem und Meropenem erwies sich aus mikrobiologischer und pharmakokinetischer Sicht bisher als geeignet zur Therapie infektiöser Komplikationen der akut-nekrotisierenden Pankreatitis. Ziel dieser Studie waren vergleichende Untersuchungen zur Pharmakokinetik und Gewebepenetration der neueren Präparate Ertapenem und Meropenem bei akut nekrotisierenden Pankreatitis. Zur Anwendung kam das Tiermodell einer akuten Pankreatitis der Ratte. Die durch retrograde Injektion von Olivenöl in den Ductus pancreaticus ausgelöste Pankreatitis entspricht der tryptisch-autodigestiven nekrotisierenden Pankreatitis beim Mensch. Da anzunehmen ist, dass es zu Veränderungen im Penetrationsverhalten unter den Bedingungen eines entzündlich-nekrotischen Geschehens kommt, wurden alle Untersuchungen parallel an einer gesunden Kontrollgruppe durchgeführt. Zusätzlich wurden Konzentrationsbestimmungen im Muskelgewebe beider Gruppen durchgeführt. Die Muskelproben dienten als Vergleichsgewebe, in welches Pharmaka relativ leicht diffundieren können (ordinary sites). Zur Verifizierung einer Pankreatitis dienten die Analyse der Amylase- und Lipaseaktivitäten im Serum sowie histologische Untersuchungen zur Schweregradbestimmung.

Für die Fragestellung wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Experimentelles Auslösen einer nekrotisierenden Pankreatitis an der Ratte durch Injektion von Olivenöl in den Ductus pancreaticus (ANP-Tiere) sowie Laparotomie von Kontrolltieren (K-Tiere); 24 h später Injektion des jeweiligen Antibiotikums in die Schwanzvene; Entnahme von Blut, Pankreas- und Muskelgewebeproben bei allen Tieren 10, 30, 60 oder 240 min post injectionem (Ertapenem) bzw. 10, 30, 60 oder 120 min post injectionem (Meropenem)
- Makroskopische Beurteilung aller Pankreasgewebeproben von K- und ANP- Tieren sowie mikroskopische Beurteilung einzelner Proben beider Gruppen
- Bestimmung der Amylase- und Lipaseaktivitäten aller Serumproben
- Konzentrationsbestimmungen des jeweiligen Antibiotikums im Serum, im homogenisierten Pankreasgewebe und homogenisierten Muskelgewebe aller Proben mittels HPLC (Meropenem) sowie für Ertapenem zusätzlich zur HPLC im Bioassay

Die serologischen und histologischen Untersuchungen bestätigten die tierexperimentell ausgelöste Pankreatitis bei den ANP-Tieren. Die mittlere Serumaktivität von Amylase und Lipase war bei den Tieren mit akut nekrotisierender Pankreatitis gegenüber den Kontrolltieren statistisch signifikant erhöht. Histologisch zeigte sich das typische Bild einer Pankreatitis, teilweise mit Nekrosen, Kalkeinlagerungen und peripankreatischen Fettgewebnekrosen, bzw. normales Pankreasgewebe.

Die Bestimmungen der Antibiotikakonzentrationen im Serum zeigten bei Ertapenem und Meropenem keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen ANP-Tieren und K-Tieren.

Im Pankreasgewebe war kein Ertapenem nachweisbar, auch nicht nach Verifizierung der HPLC-Ergebnisse mit einer zweiten Methode, dem Bioassay. Meropenem zeigte gutes Penetrationsvermögen in das Pankreasgewebe. Die gemessenen Konzentrationen lagen in entzündlich veränderten Gewebeproben nach 30 min statistisch signifikant höher als in gesundem Pankreasgewebe.

Unterschiede der Ertapenemkonzentrationen im Muskelgewebe waren nicht statistisch signifikant. Nach 240 min war in den Gewebeproben kein Ertapenem mehr nachweisbar.

Meropenemkonzentrationen im Muskel konnten nicht bestimmt werden; wahrscheinlich bedingt durch die sehr kurze Halbwertszeit von Meropenem.

Die Ursachen für die fehlende Penetration von Ertapenem in das Pankreasgewebe in dem vorliegend gewählten Versuchsansatz sind vor allem in den physikochemischen Eigenschaften zu suchen. Ertapenem kennzeichnet eine hohe Proteinbindung und Verteilung im Extrazellularraum. Deshalb erscheinen Studien zur Pharmakokinetik von Ertapenem in der interstitiellen Flüssigkeit, z.B. mittels Mikrodialyse sinnvoll.

Die Serumkonzentrationen von Ertapenem und Meropenem überschritten die minimale Hemmkonzentration (MHK) für sensible Keime von ≤ 4 mg/l. Von Ertapenem nicht erreicht wird in dieser Arbeit die MHK für klinisch relevante bakterielle Erreger im Pankreasgewebe. Für Meropenem liegen die ermittelten Pankreasgewebekonzentrationen überwiegend im Bereich der MHK_{90} für die im Rahmen der Pankreatitis relevanten Keime.

Mit Ausnahme der Ertapenemkonzentration im Pankreas sind die Ergebnisse zur Pharmakokinetik der Ratte im Wesentlichen mit den Verhältnissen beim Menschen

vergleichbar. Für Ertapenem verdeutlichen inzwischen publizierte humane Daten von Wittau et al. 2006 und Motamedi et al. 2006 (Ertapenem und akute Pankreatitis) sowie Burkhardt et al. 2006 (Ertapenem und interstitielle Flüssigkeit), dass auch dieses Carbapenem potentiell antibiotisch wirksame Konzentrationen im Pankreasgewebe erreichen kann. Weitere Studien mit Fokus auf die Konzentration von Ertapenem in der interstitiellen Flüssigkeit sind sinnvoll.

6 Literaturverzeichnis

Adam U, Herms S, Werner U, Strubelt H, Makowiec F, Hopt UT, Drewelow B (2001): The penetration of ciprofloxacin into human pancreatic and peripancreatic necroses in acute necrotizing pancreatitis. *Infection* 29: 326-331

Ammori BJ (2003): Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis. *Pancreas* 26: 122-129

Andes D, Craig WA (1998): Pharmacokinetics and pharmacodynamics of outpatient intravenous antimicrobial therapy. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 12: 849-860

Barza M (1981): Principles of tissue penetration of antibiotics. *J Antimicrob Chemotherap* 8, Suppl. C: 7-28

Basoli A, Meli EZ, Mazzocchi P, Speranza V (1997): Imipenem/cilastatin versus meropenem in patients with intra-abdominal infections: results of prospective, randomized, multicenter trial. *Scand J Infect Dis* 29: 503-8

Bassi C, Falconi M (2004): Discussion on prophylactic antibiotic treatment in patients with predicted severe pancreatitis: a placebo-controlled, double-blind trial. *Gastroenterology* 127: 1015-6; author reply 1016

Bassi C, Falconi M, Talamini G, Uomo G, Papaccio G, Derveniz C, Salvia R, Minelli EB, Pederzoli P (1998): Controlled clinical trial of perfloxacin versus imipenem in severe acute pancreatitis. *Gastroenterology* 115: 1513-1517

Bassi C, Larvin M, Villatoro E (2003): Antibiotic therapy for prophylaxis against infection of pancreatic necrosis in acute pancreatitis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 4: CD002941; Update in 2006: CD0002941

Bassi C, Mangiante G, Falconi M, Salvian R, Frigerio I, Pederzoli P (2001): Prophylaxis for septic complications in acute necrotizing pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 8: 211-5

- Bassi C, Pederzoli P, Vesentini S, Falconi M, Bonora A, Abbas H, Benini A, Bertazzoni EM (1994): Behavior of antibiotics during human necrotizing pancreatitis. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 38: 830-6
- Beger HG, Bittner R, Block S, Büchler M (1986): Bacterial contamination of pancreatic necrosis. A prospective clinical study. *Gastroenterology* 91: 433-438
- Beger HG; Isenmann R (1999): Diagnosis, objective assessment of severity, and management of acute pancreatitis. Santorini Consensus Conference. *International Journal of Pancreatology* 26: 1-3
- Beger HG; Isenmann R (1999): Surgical management of necrotizing pancreatitis. *Surgical Clinics of North America* 79: 783-800
- Beger HG, Isenmann R, Imrie CW (1999): Diagnosis, objective assessment of severity, and management of acute pancreatitis. Santorini Consensus Conference by C. Dervenis et al. *Int J Pancreatol* 26: 1-3
- Beger HG, Rau B, Isenmann R (2003): Natural History of necrotizing pancreatitis. *Pancreatology* 3: 93-101
- Beger HG; Rau B; Isenmann R (2001): Prevention of severe change in acute pancreatitis: prediction and prevention. *Journal of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery* 8: 140-147
- Beger HG, Rau B, Rünzi M, Isenmann R (2002): Therapie mit Antibiotika bei schwerer akuter Pankreatitis. *Deutsches Ärzteblatt* 99: 116-122
- Bidgood T, Papich MG (2002): Plasma pharmacokinetics and tissue fluid concentrations of meropenem after intravenous and subcutaneous administration in dogs. *Am J Vet Res* 63: 1622-8
- Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G (2002): Recent developments in carbapenems. *Expert Opinion Investigating Drugs* 11: 529-544
- Bradly III EL (2005): Acute pancreatitis: definition and classification for clinical practice. In: Domínguez-Muñoz (Hrsg.): *Clinical pancreatology for practising gastroenterologists and surgeons*. Blackwell Publishing: 1-9

- Bradley K, Wong, Patrick J, Bruhin, Jiunn H (1999): Dose-Dependent Plasma Clearance of MK-826, a Carbapenem Antibiotic, Arising from Concentration-Dependent Plasma Protein Binding in Rats and Monkeys. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 88: 277-280
- Brown A (2004): Prophylactic antibiotic use in severe acute pancreatitis: hemlock, help, or hype? *Gastroenterology Online*
- Buchler MW, Gloor B, Muller CA, Friess H, Seiler CA, Uhl W (2000): Acute necrotizing pancreatitis: treatment strategy according to the status of infection. *Annals of Surgery* 232: 619-626
- Buchler M, Malfertheiner P, Friess H (1992): Human pancreatic tissue concentration of bactericidal antibiotics. *Gastroenterology* 103: 1902-1908
- Burns GP, Stein TA, Kabnick LS (1986): Blood-pancreatic juice barrier to antibiotic excretion. *Am J Surg* 151: 205-208
- Burkhardt O, Brunner M, Schmidt S, Grant M, Tang Y, Derendorf H (2006): Penetration of ertapenem into skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue in healthy volunteers measured by in vivo microdialysis. *J Antimicrob Chemother* 58: 632-6
- Butturini G, Salvia R, Bettini R, Falconi M, Pederzoli P, Bassi C (2001): Infection prevention in necrotizing pancreatitis: an old challenge with new perspective. *J Hosp. Infect.* 49: 4-8
- Butturini G, Salvia R, Sartori N, Bassi C (2005): Antibiotic prophylaxis for acute pancreatitis in clinical practice: rationale, indications, and protocols for clinical practice. In: Domínguez-Muñoz (Hrsg.): *Clinical pancreatology for practising gastroenterologists and surgeons*. Blackwell Publishing, 102-105
- Cars O (1990): Pharmacokinetics of antibiotics in tissues and tissue fluids: a review. *Scand J Infect Dis Suppl.* 74: 23-33
- Connor S, Neoptolemos JP (2004): Surgery for pancreatic necrosis: whom, when and what. *World J Gastroenterol* 15;10: 1697-1698
- Craig WA (1998): Pharmacokinetics/Pharmacodynamics Parameters; Rationale for Antimicrobial Dosing of Mice and Men. *Clin. Infect. Dis.* 26: 1-12

- Cunha BA (2002): Ertapenem. A review of its microbiologic, pharmacokinetic and clinical aspects. *Drugs of Today* 38: 195-213
- Davey P (1990): Antibiotics in general practice. Tissue penetration. *Practitioner* 234: 1067-9
- DeCampos T, Assef JC, Rasslan S (2006): Questions about the use of antibiotics in acute pancreatitis. *World Journal of Emergency Surgery*, 1: 20
- Derveniz C, Bassi C (2000): Evidenced-based assessment of severity and management of acute pancreatitis. *Br. J. Surg.* 87: 257-258
- DeWaele JJ, Vogelaers D, Decrujenaere J, DeVos M, Colardyn F (2004): Infectious complications of acute pancreatitis. *Acta Clin. Belg.* 59: 90-6
- Domínguez-Muñoz JE (2005): Early prognostic evaluation of acute pancreatitis: why and how should severity be predicted? In: *Clinical pancreatology for practising gastroenterologists and surgeons*. Blackwell Publishing, 47-55
- Drewelow B, Koch K (1989): Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Antibiotika im Pankreas. Dissertationsschrift, Universität Rostock
- Drewelow B, Koch K, Adam U, Kinast R, Putze P, Stumper C, Stumper S (1992): Antibiotic penetration in necrotizing pancreatitis. *Internal Journal of Experimental and Clinical Chemotherapy* 5: 141-148
- Drewelow B, Koch K, Hehl EM, Riethling AK, (1992): Penetration of antibiotics into pancreatic juice and tissue. *International Journal of Clinical Pharmacological Therapy and Toxicology* 30: 494
- Drewelow B, Koch K, Otto C, Franke A, Riethling AK (1993): Penetration of ceftazidime into human pancreas. *Infection* 21: 229-234
- Drewelow B, Reisinger E (2006): Therapie mit Antibiotika und Chemotherapeutika (Infektionen). In: Lemmer/Brune (Hrsg.): *Pharmakotherapie. Klinische Pharmakologie*. Springer Lehrbuch Berlin, Kapitel 9
- Drugs of today (2002): Ertapenem. A review of its microbiologic, pharmacokinetic and clinical aspects. Vol. 38: 195-213. Prous Science

Drusano GL, Hutchison M (1995): The pharmacokinetics of meropenem. Scand J Infect Dis Suppl 96: 11-6

Elsner A (2004): Tierversuche - Die Relevanz für den Menschen ist umstritten. Deutsches Ärzteblatt 38: 2118-2119

Fachinformation INVANZ[®], MSD, 2002

Fachinformation MERONEM[®], AstraZeneca, 2002

Fachinformation ZIENAM[®], MSD, 1999

Fischer U, Rohde B, Adam U, Strubelt H, Röpert F, Koch K, Drewelow B (1996): Which aminoglycosides are suitable in therapy of infectious complications of acute pancreatitis? Penetration of amikacin, gentamicin, netilmicin and tobramycin into the pancreas. Naunyn-Schmiedeberg's Archive of Pharmacology 335: 152

Foitzik T, Hotz HG, Kinzig M, Sörgel F, Buhr HJ (1997): Influence of changes in pancreatic tissue morphology and capillary blood flow on antibiotic tissue concentrations in the pancreas during the progression of acute pancreatitis. Gut 40: 526-530

Foitzik T, Klar E, Buhr H.J (1998): Umsetzung experimenteller Forschungsergebnisse in der Behandlung der akuten Pankreatitis. Chirurg 69: 423-431

Garau J, Blanquer J, Cobo L, Corcia S, Daguerre M, deLatorre FJ, Leon C, DelNogal F, Net A, Rello J (1997): Prospective, randomised, multicenter study of meropenem versus imipenem/cilastatin as empiric monotherapy in severe nosocomial infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 16: 789-96

Gerber A, Frimodt-Møller N, Craig WA (1980): Tissue binding of antimicrobial agents in vitro: a critical study focusing on the concentration of the tissue homogenate used. Infection 8 Suppl 3: 276-279

Gill CJ, Jackson JJ, Gerckens LS, Pelak BA, Thompson RK, Sundelof JG, Kropp H, Rosen H (1998): In vivo activity and pharmacokinetic evaluation of a novel long-acting carbapenem antibiotic, MK-826 (L-749345). Antimicrob Agents Chemotherapy 42: 1996-2001

- Gloor B, Muller CA, Worni M, Martignoni ME, Uhl W, Buchler MW (2001): Late mortality in patients with severe acute pancreatitis. *British Journal of Surgery* 88: 975-979
- Gloor B, Schmidt O, Uhl W, Buchler MW (2001): Prophylactic antibiotics and pancreatic necrosis. *Curr Gastroenterolo Rep* 3: 109-114
- Goldstein EJC (2002): Intra-abdominal anaerobic infectins: bacteriology and therapeutic potential of newer antimicrobial carbapenem, fluoroquinolone, and desfluoroquinolone therapeutic agents. *CID* 35(Suppl.1): 106-110
- Greenhalgh JM, Edwards JR (1997): A comparative study of the in vitro activity of Meropenem and representatives of the major clases of broad-spectrum antibiotics. *Clin Microbiol Infect* 3: 20-31
- Gregg JA, Mahler L, DeGiorlami PC, Gregg jr. JA (1985): Secretion of β -Laktam antibiotics in pure human pancreatic juice. *Am J Surg* 150: 333-335
- Greten H (2001): *Innere Medizin*. Thieme, Stuttgart, 890-899
- Gumaste V (2000): Prophylactic antibiotic therapy in the management of acute pancreatitis. *Journal of Clinical Gastroenterology* 31: 6-10
- Haas S, Singer MV (2002): Differentialdiagnose und Therapie der akuten Pankreatitis. *Praxis* 91: 1595-1602
- Hammond ML (2004): Ertapenem: a group 1 carbapenem with distinct antibacterial and pharmacological properties. *J Antimicrob Chemptherap* 53, Suppl. S2:ii7-9
- Harrison MP, Moss SR, Featherstone A, Fowkes AG, Sanders AM, Case DE (1989): The disposition and metabolism of meropenem in laborator animals and man. *Journal Antimicrobiotic Chemotherapy* 24 Suppl A: 265-77
- Herold G (2001): *Innere Medizin*. Herold, Köln, 406-413
- Holliday SM, Benfield P (1998): Meropenem. A pharmacoeconomic review of its use in serious infections. *Pharmacoeconomics* 13: 359-377
- Hopt UT (1998): Die akute Pankreatitis und das Interstitium. *Kli&Fo* 4: 5-6

Hurst, M.; Lamb, H.M (2000): Meropenem, a review of its use in patients in intensive care. *Drugs* 59: 653-680

Isaji S, Mizuno S, Tabata M (2003): Bacterial analysis of infected pancreatic necrosis and its prevention. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 10: 419-424

Isenmann R, Beger HG (2001): Bacterial infection of pancreatic necrosis: role of bacterial translocation, impact of antibiotic treatment. *Pancreatology* 1: 79-89

Isenmann R, Beger HG (1999): Natural history of acute pancreatitis and the role of infection. *Bailliers Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology* 13: 291-301

Isenmann R, Buchler MW (1994): Infection and acute pancreatitis. *British Journal of Surgery* 81: 1070-1708

Isenmann R, Buchler M, Uhl W, Malfertheimer P, Martini M, Beger HG (1993): Pancreatic necrosis: an early finding in severe acute pancreatitis. *Pancreas* 8: 358-361

Isenmann R, Fries H, Schlegel P, Fleischer K, Buchler MW (1994): Penetration of ciprofloxacin into the human pancreas. *Infection* 22: 343-346

Isenmann R, Henne-Bruns D, Adler G (2003): Gastrointestinal disorders of the critically ill. Shock and acute pancreatitis. *Bailliers Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology* 17: 345-355

Isenmann R, Rau B, Beger HG (2001): Infected necroses and pancreatic abscess: surgical therapy. *Kongressband Deutsche Gesellschaft Chirurgie Kongresse* 118: 282-284

Isenmann R, Rau B, Beger HG (2001): Early severe acute pancreatitis: characteristics of a new subgroup. *Pancreas* 22: 274-278

Isenmann R, Rau B, Beger HG (1999): Bacterial infection and extent of necrosis are determinants of organ failure in patients with acute necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 86: 1020-1024

Isenmann R, Rau B, Zoellner U, Beger HG (2001): Management of patients with extended pancreatic necrosis. *Pancreatology* 1: 63-68

- Isenmann R, Runzi M, Kron M (2004): Prophylactic antibiotic treatment in patients with predicted severe acute pancreatitis: a placebo-controlled, double-blind trial. *Gastroenterology* 126: 997-1004
- Kitzes-Cohen R, Farin D, Piva G, DeMyttenaere-Bursztein SA (2002): Pharmacokinetics and pharmacodynamics of Meropenem in critically ill patients. *Int J Antimicrob Agents* 19: 105-10
- Klar E, Werner J (2000): Neue pathologische Erkenntnisse der akuten Pankreatitis. *Chirurg* 71: 253-264
- Koch K, Drewelow B (1989): Pancreatic kinetics of ampicillin. *Zentralbl. Chir.* 114: 129-35
- Koch K, Drewelow B, Brinckmann W (1993): Pancreas penetration by ofloxacin-a pilot study. *Der Gastroenterologe* 31: 587-591
- Koch K, Drewelow B, Liebe S, Reding R, Riethling A-K (1991): Die Pankreasgängigkeit von Antibiotika. *Chirurg* 62: 317-322
- Lankisch PG, Lerch MM (2006): The role of antibiotic prophylaxis in the treatment of acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 40: 149-55; Erratum in *J Clin Gastroenterol* 40: 564
- Lerch MM, Adler G (1994): Experimental animal models of acute pancreatitis. *International Journal of Pancreatology* 15: 159-170
- Lerch MM, Adler G (1995): Akute Pankreatitis. In: Mössner J (Hrsg.): *Erkrankungen des exkretorischen Pankreas*. Gustav-Fischer-Verlag, Jena Stuttgart, 218-31
- Livermore DM, Sefton AM, Scott GM (2003): Properties and Potential of Ertapenem. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52: 331-344
- Lowe MN, Lamb HM (2000): Meropenem. An updated review of its use in the management of intra-abdominal infections. *ADIS Drug Evaluation*
- Maglio D, Teng R, Thyrum PT, Nightingale CH, Nicolau DP (2003): Pharmacokinetic profile of meropenem, administered at 50mg every 8h, in plasma and skin blister fluid. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 1771-3

Manes G, Uomo I, Menchise A, Rabitti PG, Ferrara EC, Uomo G (2006): Timing of antibiotic prophylaxis in acute pancreatitis: a controlled randomized study with meropenem. *Am J Gastroenterol* 101: 1348-53

Maraví-Poma E; Gener J; Alvarez-Lerma F; Olaechea P; Blanco A; Domínguez-Munoz JE (2003): Early antibiotic treatment (prophylaxis) of septic complications in severe acute necrotizing pancreatitis: a prospective, randomized, multicenter study comparing two regimens with imipenem-cilastatin. *Intensive Care Med* 29: 1974-1980

Mazaki T, Ishii Y, Takayama T (2006): Meta-analysis of prophylactic antibiotic use in acute necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 93: 674-84

Merkord J (2003): Untersuchungen über toxische Wirkungen von Dibutylzinndichlorid (DBTC) auf Gallengang, Pankreas und Leber der Ratte und die Entwicklung eines tierexperimentellen Modells für die Pankreatitis. *Med. Habilitationsschrift, Universität Rostock*

Minelli EB, Benini A Bassi C, Abbas H, Falconi M, Locatelli F, deMarco R, Pederzoli P (1996): Antimicrobial activity of human pancreatic juice and it's interaction with antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother* 40: 2099-2105

Morgenroth K, Kozuschek W (1989): Akute Pankreatitis. In: *Pankreatitis*. Walter de Gruyter, Berlin New York, 33-73

Mouton JW, Touzw A.M., Horrevorts A.M., Vinks A.A. (2000): Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. *Clin. Pharmacokinet.* 39: 185-201

Mössner J et al.: *Erkrankungen des exkretorischen Pankreas*, Gustav Fischer-Verlag, Jena 1995

Motamedi S, Schoenberg MH (2006), Penetration of Ertapenem in human pancreas. Results of a prospective clinical trial. 16th ECCMID, Nice, Abstract P1518

Mouton JW, Touzw DJ, Horrevorts AM, Vinks AA (2000): Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 39: 185-201

Moyshenyat I, Mandell E, Tenner S (2006): Antibiotic prophylaxis of pancreatic infection in patients with necrotizing pancreatitis: rationale, evidence, and recommendations. *Curr Gastroenterol Rep* 8: 121-6

Muller C, Uhl W, Gloor B, Worni M, Roggo A, Borgstrom A, Buchler MW (2000): Acute pancreatitis-clinical and technical laboratory diagnostic and prognostic assessment. *Swiss Surgery* 6: 235-240

Mundkowsky R (2006): A new simple HPLC assay for the quantification of ertapenem in human plasma, lung tissue, and broncho-alveolar lavage fluid. *Journal of chromatography B* Vol 832: 231-235

Musson DG, Majumdar A, Holland S, Birk K, Xi L, Mistry G, Sciberras D, Muckow J, Deutsch P, Rogers JD (2004): Pharmacokinetics of total and unbound ertapenem in healthy elderly subjects. *Antimicrob. Agents and Chemotherapy* 2: 521-524

Neumann K (1999): Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pharmakokinetik von vier Aminoglykosidantibiotika im Pankreas der Ratte. *Med. Dissertationsschrift, Universität Rostock*

Niederau C, Ferrell L.D, Grendell JH (1986): Experimentelle akute Pankreatitis. *Internist* 27: 681-696

Nix DE, Goodwin SD, Peloquin CA, Rotella DL, Schentag JJ (1991): Antibiotic tissue penetration and its relevance: models of tissue penetration and their meaning. *Antimicrob. Agents Chemotherap* 35: 1947-52

Nix DE, Goodwin SD, Peloquin CA, Rotella DL, Schentag JJ (1991): Antibiotic tissue penetration and its relevance: impact of tissue penetration on infection response. *Antimicrob. Agents Chemotherap* 35: 1953-9

Nix DE, Majumdar AK, DiNubile MJ (2004): Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ertapenem: an overview for clinicians. *J Antimicrob Chemother.* 53 Suppl 2: ii23-8

Nizze H (1980): Pankreatitismodelle. *Ergebn. exp. Med.* 35: 281-290

- Nordback I, Sand J, Saaristo R, Paaanen H (2001): Early treatment with antibiotics reduces the need for surgery in acute necrotizing pancreatitis - a single-center randomized study. *Journal of Gastrointestinal Surgery* 5: 113-120
- Norrby SR (2000): Carbapenems in serious infections. A risk-benefit assessment. *Drug Safety* 22: 191-194
- Odenholt I (2001): Ertapenem: a new carbapenem. *Expert Opinion Investigating Drugs* 10: 1157-1166
- Paraskeva K, Avgerinos C, Dervenis C (2005): Nutrition in the acute phase of pancreatitis: why, when, how, and how long?. In: *Clinical pancreatology for practising gastroenterologists and surgeons*. Blackwell Publishing, 98-99
- Pederzoli P, Bassi C, Vesentini S, Campedelli A (1993): A randomized multicenter clinical trial of antibiotics prophylaxis of septic complications in acute necrotizing pancreatitis with imipenem. *Surg Gynecol* 176: 480-483
- Pedroni G, Zweifel P (1984): Meilensteine des medizinischen Fortschritts. Antibiotika. Gesundheitliche und wirtschaftliche Aspekte. *Studien zur Gesundheitsökonomie* 5.
- Pezzilli R (2004): Antibiotic prophylaxis in acute necrotizing pancreatitis: yes or no? *Journal of Pancreas (Online)* 5: 161-164
- Pezzilli R (2006): Early antibiotic treatment in acute pancreatitis: more news. *J Pancreas (Online)* 7: 435-437
- Pletz MWR, Rau M, Bulitta J, De Roux A, Burkhardt O, Kruse G, Kurowski M, Nord C.E., Lode H (2004): Ertapenem pharmacokinetics and impact on intestinal microflora, in comparison to those of ceftriaxone, after multiple dosing in male and female volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48: 3765-3772
- Powell JJ, Miles R, Siriwardena AK (1998): Antibiotic prophylaxis in the initial management of severe acute pancreatitis. *British Journal of Surgery* 85: 582-587
- Ragnar Norrby S (2000): Carbapenems in serious infections, a risk-benefit assessment. *Drug Safety* 22: 191-194

Saglamkaya U, Mas MR, Yasar M, Simsek I, Mas NN, Kocabalkan F (2002): Penetration of meropenem and cefepim into pancreatic tissue during the course of experimental acute pancreatitis. *Pancreas* 24: 264-8.

Schmid SW, Uhl W, Friess H, Malfertheiner P, Buchler MW (1999): The role of infection in acute pancreatitis. *Gut* 45: 311-6

Schott H: Die Chronik der Medizin. Gütersloh und München 2000, S. 236-237

Schult A (1991): Erforschung der akuten Pankreatitis eingebunden in den Vorstellungen über das exokrine Pankreas in den Zeitepochen. Med. Dissertationsschrift, Universität Rostock

Shah PM, Stille W (2000): Carbapeneme im Vergleich. Arzneimitteltherapie, Informationen zur Pharmakotherapie für Ärzte und Arzneimittelkommissionen 18: 207-215

Sharma VK, Howden CW (2001): Prophylactic antibiotic administration reduces sepsis and mortality in acute necrotizing pancreatitis: a meta-analysis. *Pancreas* 22: 28-31

Slavin J, Neoptolemos JP (2001): Antibiotic prophylaxis in severe acute pancreatitis - what are the facts? *Langenbeck's Arch Surg* 386: 155-159

Solomkin JS, Umanskiy K (2003): Intraabdominal sepsis: newer interventional and antimicrobial therapies for infected necrotizing pancreatitis. *Curr. Opin. Crit Care* 9: 424-7

Steer ML, Perides G (2005): Pathogenesis: how does acute pancreatitis develop? In: Domínguez-Muñoz JE (Hrsg.): Clinical pancreatology for practising gastroenterologists and surgeons. Blackwell Publishing, 10-26

Tomaselli F, Maier A, Matzi V, Smolle-Jüttner M, Dittrich P (2004): Penetration of meropenem into pneumonic human lung tissue as measured by in vivo microdialysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48: 2228-2232

Uhl W, Isenmann R, Buchler MW (1998): Infections complicating pancreatitis: diagnosing, treating, preventing. *New Horiz.* 6(2Suppl.): S72-9

Uhl W, Isenmann R, Curti G, Vogel R, Berger HG, Buchler MW (1996): Influence of etiology on the course and outcome of acute pancreatitis. *Pancreas* 13: 335-343

Villatoro et al. Cochrane 2004

Villatoro E, Bassi C, Larvin M (2006): Antibiotic therapy for prophylaxis against infection of pancreatic necroses in acute pancreatitis. Cochrane Database Syst. Rev. 18:CD002941

Wacke R (2005): Vortrag, 8. Rostocker Antiinfektivatage, September 2005

Wacke R, Park S, Mundkowski R, Block S, Kuhn-Thiel A, Drewelow B (2003): The penetration of Moxifloxacin into the pancreas of male rats in experimental acute necrotizing pancreatitis. Chemotherapy 49: 167-171

Wanke M (1970): Experimental acute pancreatitis. Curr. Top. Path. 52: 64-142

Wanke M, Nagel W, Willig F (1966): Formen der experimentellen Pankreatitis patho-anatomisch gesehen. Frankfurter Zeitschrift für Pathologie 75: 207-227

Wanke M (1968): Zwanglose Abhandlung aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie, 1a. In: Experimentelle Pankreatitis. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Werner J, Uhl W, Hartwig W, Hackert T, Müller C, Strobel O, Buchler MW (2003): Modern phase-specific management of acute pancreatitis. Dig Dis 21: 38-45

Wexler HM (2004): In vitro activity of ertapenem: review of recent studies. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 53, Suppl. S2, ii11-ii21

Wise R (1986): The clinical relevance of protein binding and tissue concentrations in antimicrobial therapy. Clinical Pharmacokinetics 11: 470-83

Wise R, Logan M, Cooper M, Ashby JP, Andrews JM (1990): Meropenem. Pharmacokinetics and penetration into an inflammatory exudate. Antimicrob Agents Chemotherapy 34: 1515-1517

Wiseman LR, Wagstaff AJ, Brodgen RN, Bryson HM (1995): Meropenem. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficacy. Drugs 50: 73-101

Wittau M, Wagner E, Kaefer V, Koal T, Henne-Bruns D, Isenmann R (2006): Intraabdominal tissue concentration of ertapenem. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 57: 312-316

Wong BK, Xu X, Yu S, Lin HJ, Singh R, Sahly Y, Mistry G, Holland S, Waldman S, Musson D, Majumdar A (2004): Comparative disposition of [¹⁴C]ertapenem, a novel carbapenem antibiotic, in rat, monkey and man. *Xenobiotica* 34: 379-389

Yoshida T, Homma K, Azami K, Sugihara T, Ohura T (1993): Pharmacokinetics of meropenem in experimentally burned rats. *J Dermatol* 20: 208-13

Zanetti G, Hrbarth SJ, Trampuz A, Ganev M, Mosimann F, Chautemps R, Morel P, Lew D, Zimmerli W, Lange J, Glauser M (1999): Meropenem is as effective as imipenem/cilastatin for the treatment of moderately severe intra-abdominal infections. *Int J Antimicrob Agents* 11: 107-13

Thesen

1. Die akut nekrotisierende Pankreatitis beim Menschen ist bis heute eine Herausforderung an alle beteiligten Ärzte. Durch Infektion von Nekroseherden kommt es zur Sepsis mit Multiorganversagen. Die Letalität liegt bei bis zu 50%.
2. Das Keimspektrum infizierter Pankreasnekrosen umfaßt Erreger der natürlichen Magen-Darm Flora. In erster Linie (50 - 70 %) gramnegative Keime wie *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. und *Enterobacter* spp. Aber auch *Staphylococcus aureus* et *epidermidis* und *Enterococcus* spp. als grampositive Keime sowie Anaerobier sind vorhanden.
3. Der prophylaktische bzw. therapeutische Einsatz von Antibiotika wird vielfach diskutiert. Eine deutliche Senkung der Mortalität konnte dadurch bisher nicht erreicht werden.
4. Voraussetzung einer effektiven Antibiose ist die Wirksamkeit in Bezug auf das Keimspektrum sowie eine ausreichend hohe Wirkstoffkonzentration am Ort der Infektion.
5. Zahlreiche geeignete Antibiotika wurden bisher auf ihre Pankreasgewebegängigkeit hin überprüft. Dabei kristallisierte sich die Existenz einer Blut-Pankreas-Schranke heraus. Nicht alle potenziell wirksamen Antibiotika penetrieren gleichermaßen in die Bauchspeicheldrüse.
6. Imipenem aus der Gruppe der Carbapeneme überzeugte bisher in der Therapie der akut nekrotisierenden Pankreatitis durch das entsprechende Keimspektrum sowie den klinischen Erfolg.
7. Neuere Präparate aus der Gruppe der Carbapeneme sind Meropenem und Ertapenem. Sie heben sich durch eine längere Halbwertszeit im Vergleich zu Imipenem ab. Zum jetzigen Zeitpunkt existieren nur wenige Daten bezüglich des Penetrationsvermögens von Meropenem und Ertapenem in das Pankreasgewebe.
8. Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von Meropenem und Ertapenem auf ihre Penetrationsfähigkeit in das Pankreasgewebe bei morphologisch gesundem Gewebe sowie unter den Bedingungen einer akut nekrotisierenden Pankreatitis.

9. Für Untersuchungen zur Pharmakokinetik einzelner Antibiotika in das Pankreasgewebe werden tierexperimentelle Ansätze genutzt. Diese erlauben größere Fallzahlen und bessere Vergleichbarkeit als ethisch schwierige Studien am Menschen. Tierexperimentell gewonnene Ergebnisse können jedoch nur als Orientierungswerte dienen. Klinische Studien am menschlichen Pankreasgewebe können dazu weiteren Aufschluss geben.
10. Die vorliegende Arbeit nutzt das Rattenmodell nach Wanke. Durch retrograde Olivenölinjektion in den Ductus pancreaticus kommt es nach 24 h zum Vollbild einer akut nekrotisierenden Pankreatitis. Das Modell ist in der experimentellen Pankreatitisforschung etabliert und pathophysiologisch mit der menschlichen tryptisch-autodigestiven Pankreatitis vergleichbar. Enzymparameter (Amylase/Lipase) sowie histologische Veränderungen sind bei der Ratte entsprechend der Erkrankung beim Menschen darstellbar.
11. In der Untersuchungsreihe für Ertapenem fanden Messungen 10, 30, 60 und 240 min post applicationem i.v. des Antibiotikums statt. In der Untersuchungsreihe für Meropenem fanden Messungen 10, 30, 60 und 120 min post applicationem i.v. in eine Schwanzvene statt.
12. Neben der Gewinnung von Serum- und Pankreasgewebeproben wurden Muskelgewebeproben entnommen. Penetrationsbarrieren, wie sie für das Pankreas bestehen, existieren im Muskelgewebe nicht. Muskelgewebe dient daher als Vertreter von ‚ordinary sites‘, ohne charakteristische Merkmale hinsichtlich dem Verteilungsvermögen von Antibiotika im Gewebe.
13. Die Analyse der Antibiotikakonzentrationen von Ertapenem und Meropenem erfolgte mittels HPLC. Ergänzend dazu wurde die Ertapenemkonzentration in Pankreas- und Muskelgewebe mittels Bioassay ermittelt.
14. Die serologischen und histologischen Untersuchungen bestätigten das Vorliegen einer akut nekrotisierenden Pankreatitis bei den entsprechenden Tieren. Mittlere Aktivitäten von Amylase- und Lipase im Serum der ANP-Tiere waren jeweils signifikant erhöht gegenüber denen der K-Tiere.

15. Ertapenem und Meropenem waren im Serum der ANP- und K -Tiere gut nachweisbar. Ein signifikanter Unterschied der Serumkonzentrationen zwischen ANP- und K-Tieren konnte weder in der Untersuchungsreihe Ertapenem noch in der Untersuchungsreihe Meropenem festgestellt werden.
16. Ertapenem ist im Pankreasgewebe nicht nachweisbar. Die Konzentrationen von Meropenem sind im Pankreasgewebe jeweils bei ANP-Tieren tendenziell höher vor bei K-Tieren. Ein statistisch signifikanter Unterschied besteht zum Entnahmezeitpunkt 10 min nach Applikation von Meropenem.
17. Für das Muskelgewebe sind die Konzentrationen von Ertapenem bei den ANP-Tieren tendenziell höher als bei den K-Tieren, ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Meropenem lässt sich im Muskelgewebe nicht nachweisen.
18. Die Serumkonzentrationen von Ertapenem überschritten die laut Fachinformation angegebene minimale Hemmkonzentration (MHK) für klinisch relevante bakterielle Erreger infektiöser Komplikationen bei akut-nekrotisierender Pankreatitis von ≤ 4 mg/l für sensible Keime deutlich. Nach 240 min liegt die Serumkonzentration mit MW 0,04 mg/l unter diesem Richtwert.

Für Meropenem liegen die ermittelten Serum- und Pankreasgewebekonzentrationen oberhalb der MHK_{90} -Werte von ≤ 4 mg/l für sensible Keime.

19. Ertapenem und Meropenem zeichnet die Bindung an Plasmaproteine aus. Damit resultieren Gewebespiegel vor allem aus der Konzentration in der interstitiellen Flüssigkeit. Der gewählte experimentelle Ansatz konnte das Ausmaß der Gewebepenetration von Meropenem und Ertapenem in das gesunde und akut-entzündliche Pankreasgewebe nicht ausreichend darstellen.

Für weitere Untersuchungen bietet sich derzeit die Abschätzung der Penetration auf der Grundlage der Konzentration in der interstitiellen Flüssigkeit an.

20. Die Vergleichbarkeit von pharmakokinetischen Daten im Pankreasgewebe von Ratte und Mensch ist nachweislich gut. Trotzdem sind alle Ergebnisse nur bedingt auf den Menschen übertragbar.

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. med. B. Drewelow für die freundliche Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit. Bei Herrn Dr. rer. nat. R. Wacke bedanke ich mich für die ausführliche wissenschaftliche Betreuung und sein außergewöhnliches Engagement, das zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Bei der tierexperimentellen Durchführung hat mich Frau I. Karasch unterstützt, ohne deren geduldige und gewissenhafte Hilfe die praktische Durchführung nicht möglich gewesen wäre.

Frau K. Krösche und Frau E. Lautenbach danke ich für die zuverlässige und sorgfältige Analyse der Serum- und Gewebeproben.

Abschließend möchte ich mich bei allen weiteren Mitarbeitern des Zentrums für Pharmakologie und Toxikologie, die durch ihre Mitarbeit zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben, ganz herzlich bedanken, insbesondere bei Frau PD Dr. med. J. Merkord sowie Herrn Dr. rer. nat. R. G. Mundkowski.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass die zur Dissertation eingereichte Arbeit selbständig und ausschließlich unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst wurde. Den verwendeten Werken inhaltlich entnommene Textstellen wurden als solche kenntlich gemacht. Die vorliegende Arbeit wurde an keiner anderen Fakultät eingereicht.

Hannover, den

Unterschrift

Anhang

Anhang 1: Histologische Begutachtung der Gewebeproben 24 h post applicationem von Olivenöl in den Ductus pancreaticus; Untersuchungsreihe Ertapenem

ANP

Tier (Nr.)	Makr. Score	Histologie
ANP1	II	Pankreasödem, Entzündungszellen
ANP3	I	
ANP4	I	
ANP5	II	
ANP6	II	
ANP8	I	
ANP9	II	
ANP22	III	Pankreatitis
ANP23	II	
ANP24	III	P.ödem, Entzünd.zellen, Fettgewebsnekrosen
ANP26	III	
ANP28	III	
ANP29	II	
ANP41	III	Pankreasödem, Entzündungszellen
ANP42	III	
ANP43	II	
ANP44	II	
ANP45	I	
ANP46	I	
ANP49	II	
ANP61	III	Pankreasödem, keine Entzündungszellen
ANP62	III	
ANP63	III	
ANP64	III	Pankreasödem, Entzündungszellen
ANP66	III	
ANP67	III	
ANP68	II	
ANP69	II	

Kontrolle

Tier (Nr.)	Makr. Score	Histologie
K10	o.B.	o.B.
K12	o.B.	
K13	o.B.	
K14	o.B.	
K15	o.B.	
K16	II	Pankreatitis
K30	o.B.	o.B.
K31	o.B.	
K32	o.B.	
K33	o.B.	
K35	o.B.	
K50	o.B.	o.B.
K51	o.B.	
K52	o.B.	
K53	o.B.	
K54	o.B.	
K55	o.B.	
K56	o.B.	
K70	o.B.	o.B.
K71	o.B.	
K72	o.B.	
K73	o.B.	
K74	o.B.	
K75	o.B.	
K76	o.B.	

Anhang 2: Histologische Begutachtung der Gewebeproben 24 h post applicationem von Olivenöl in den Ductus pancreaticus; Untersuchungsreihe Meropenem

ANP

Tier (Nr.)	Makr. Score	Histologie
ANP1	II	Pankreasödem, vereinzelt Entzündungszellen
ANP2	II	
ANP5	I	
ANP6	II	
ANP7	I	
ANP8	II	
ANP9	II	
ANP10	I	Pankreasödem, keine Entzündungszellen
ANP21	I	akute Pankreatitis mit Fettgewebsnekrose
ANP22	I	
ANP23	II	
ANP24	II	
ANP25	I	
ANP26	I	
ANP28	I	
ANP29	II	leichtes Ödem, keine Entzündungszellen
ANP41	II	leichtes Ödem, keine Entzündungszellen
ANP42	II	
ANP43	II	
ANP44	II	
ANP46	II	
ANP47	II	
ANP48	II	
ANP49	II	
ANP61	II	leichtes Ödem, keine Entzündungszellen
ANP62	II	
ANP63	II	
ANP64	I	
ANP65	I	
ANP66	I	
ANP67	I	
ANP68	II	akute Pankreatitis, vereinzelt Fettgewebsnekrosen
ANP69	I	

Kontrolle

Tier (Nr.)	Makr. Score	Histologie
K11	o.B.	o.B.
K12	o.B.	
K13	o.B.	
K14	o.B.	
K15	o.B.	
K16	o.B.	
		leichtes Ödem
K31	o.B.	
K32	o.B.	
K33	o.B.	
K34	o.B.	
K35	o.B.	
K51	o.B.	
K52	o.B.	
K53	o.B.	
K54	o.B.	
K56	o.B.	
K57	o.B.	
K71	o.B.	
K72	o.B.	
K73	o.B.	
K75	o.B.	
K76	o.B.	
K77	o.B.	

Anhang 3: Amylase- und Lipaseaktivität im Serum 24 h post applicationem von Olivenöl in den Ductus pancreaticus; Untersuchungsreihe Ertapenem

ANP

Tier (Nr.)	Amylase Serum U/l	Lipase Serum U/l
ANP1	6240	7,2
ANP3	1850	6,8
ANP4	5800	25,4
ANP5	6620	37,5
ANP6	2790	6,0
ANP8	6100	31,0
ANP9	1400	6,2
ANP22	9009	12,5
ANP23	8100	49,0
ANP24	5950	45,5
ANP26	6740	78,9
ANP28	2240	7,8
ANP29	2070	7,1
ANP41	2650	5,7
ANP42	2590	7,7
ANP43	1770	5,9
ANP44	7450	33,1
ANP45	14952	62,2
ANP46	1390	6,7
ANP49	2360	8,7
ANP61	1960	6,9
ANP62	3000	8,1
ANP63	1870	8,2
ANP64	2260	7,0
ANP66	5210	8,0
ANP67	2590	7,9
ANP68	5290	41,3
ANP69	3640	38,3
MW	4424,7	20,59
Stabw	3076,0	20,20

Kontrolle

Tier (Nr.)	Amylase Serum U/l	Lipase Serum U/l
K10	1165	8,8
K12	1210	8,1
K13	725	8,2
K14	1025	7,9
K15	1040	8,5
K16	1150	8,3
K30	730	8,0
K31	750	8,2
K32	905	8,6
K33	1675	8,9
K35	1445	9,7
K50	1005	7,8
K51	880	9,0
K52	1080	9,3
K53	980	8,9
K54	1530	8,7
K55	1480	8,4
K56	1385	8,7
K70	2950	8,6
K71	1525	8,4
K72	2840	8,8
K73	5615	8,6
K74	1395	8,4
K75	1770	7,9
K76	1430	8,0
MW	1507,4	8,51
Stabw	1018,8	0,46

t-Test

ANP vs. Kontrolle (zweiseitig, zwei Stichproben, ungleiche Varianz)

p (Amylase) 0,00004
p (Lipase) 0,004

Anhang 4: Amylase- und Lipaseaktivität im Serum 24 h post applicationem von Olivenöl in den Ductus pancreaticus; Untersuchungsreihe Meropenem

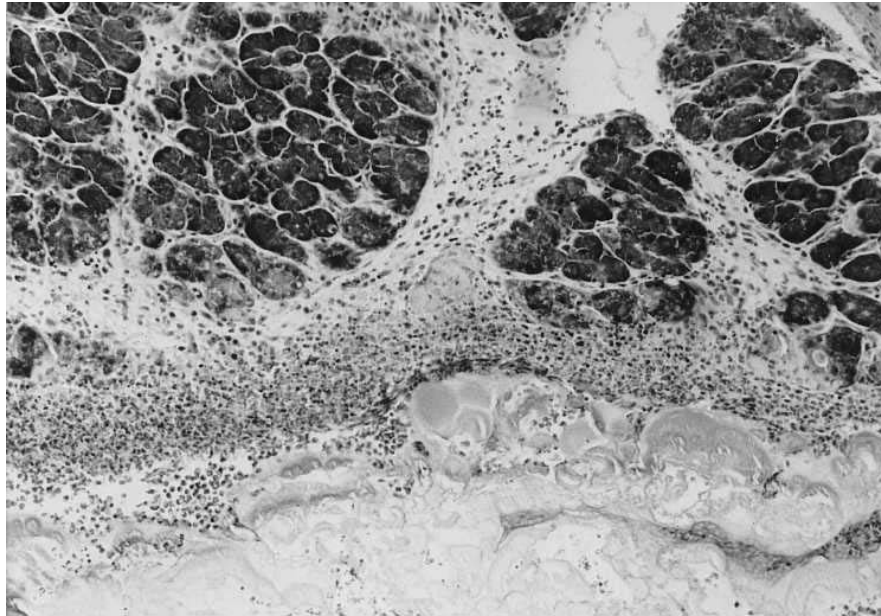
ANP

Tier (Nr.)	Amylase Serum U/l	Lipase Serum U/l
ANP1	6159	50,0
ANP2	5670	51,0
ANP5	1302	18,0
ANP6	1512	18,0
ANP7	2562	6,5
ANP8	6090	42,0
ANP9	1722	6,0
ANP10	1176	5,0
ANP21	4431	62,0
ANP22	3612	115,0
ANP23	1911	7,0
ANP24	1890	5,0
ANP25	2142	22,0
ANP26	1533	10,0
ANP28	3444	62,0
ANP29	3108	51,0
ANP41	1113	8,0
ANP42	4074	59,0
ANP43	1134	48,0
ANP44	3927	81,0
ANP45	2016	35,0
ANP46	1575	22,0
ANP47	1365	6,0
ANP48	3696	124,0
ANP49	3255	70,0
ANP61	1071	6,0
ANP62	1176	5,0
ANP63	2730	24,0
ANP64	3696	6,0
ANP65	2100	36,0
ANP66	6993	272,0
ANP67	8337	185,0
ANP68	1155	6,0
ANP69	6206	123,0
MW	3055,38	36,38
Stabw	1958,21	33,23

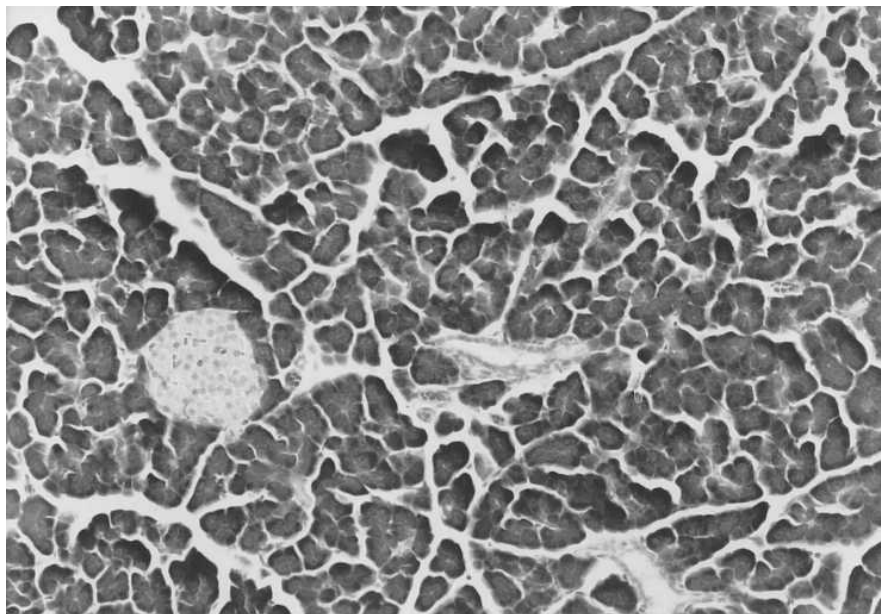
Kontrolle

Tier (Nr.)	Amylase Serum U/l	Lipase Serum U/l
K11	1071	5,0
K12	1155	5,0
K13	1176	11,0
K14	1869	6,0
K15	798	6,0
K16	966	5,0
K31	1176	5,0
K32	1050	5,0
K33	1218	5,0
K34	1071	6,0
K35	1092	5,0
K51	1176	5,0
K52	1050	9,0
K53	1218	5,0
K54	1071	6,0
K56	1092	5,0
K57	1176	6,0
K71	1281	5,0
K72	1113	8,0
K73	1071	6,0
K75	819	5,0
K76	987	6,0
K77	1365	7,0
MW	1133,09	6,12
Stabw	205,90	1,52

t-Test ANP vs. Kontr. (zweiseitig, zwei Stichproben, ungleiche Varianz)
p(Amylase) **2,24E-06**
p(Lipase) **0,00016**



Anhang 5: Histologisches Bild eines Rattenpankreas (ANP-Tier) 24 Stunden nach Auslösen einer akut nekrotisierenden Pankreatitis durch Applikation von 0,2 ml Oleum olivarium in den Ductus pancreaticus. Schwere Entzündung mit Azinusnekrosen, Fettgewebnsnekrosen, infiltrierten Entzündungszellen und leichtem Ödem. HE x 40.



Anhang 6: Histologisches Bild eines Rattenpankreas (K-Tier) 24 Stunden nach chirurgischer Darstellung des Ductus pancreaticus ohne Auslösen einer akut nekrotisierende Pankreatitis (Kontrolle) Keine Entzündungszeichen, leichtes Ödem infolge der chirurgischen Manipulation. HE x 40.

Anhang 7: Die Einzelwerte der Konzentrationsmessungen in Serum (mg/l), Pankreas- und Muskelgewebe (mg/kg) für Ertapenem (HPLC und Bioassay) nach i.v. Injektion von 10 mg/kg KG

10 Min. nach Gabe										30 Min. nach Gabe										60 Min. nach Gabe										240 Min. nach Gabe									
ANP					ANP					ANP					ANP					ANP					ANP														
Tier (Nr.)	Serum HPLC	Pankreas HPLC	Pankreas Bioassay	Muskel	Tier (Nr.)	Serum HPLC	Pankreas HPLC	Pankreas Bioassay	Muskel	Tier (Nr.)	Serum HPLC	Pankreas HPLC	Pankreas Bioassay	Muskel	Tier (Nr.)	Serum HPLC	Pankreas HPLC	Pankreas Bioassay	Muskel	Tier (Nr.)	Serum HPLC	Pankreas HPLC	Pankreas Bioassay	Muskel	Tier (Nr.)	Serum HPLC	Pankreas HPLC	Pankreas Bioassay	Muskel										
ANP1	29,30	n.n.	3,0	1,7	ANP22	9,79	n.n.	0,8	0,5	ANP41	9,87	n.n.	0,5	1,1	ANP61	0,08	n.n.	0,5	n.n.	1,1	ANP81	0,08	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,08	n.n.	n.n.	0,0									
ANP3	37,66	n.n.	n.n.	2,2	ANP23	2,68	n.n.	n.n.	0,3	ANP42	6,90	n.n.	n.n.	0,5	ANP62	0,07	n.n.	0,5	n.n.	0,5	ANP82	0,07	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,07	n.n.	n.n.	0,0									
ANP4	46,31	n.n.	n.n.	1,1	ANP24	11,30	n.n.	n.n.	1,0	ANP43	12,43	n.n.	n.n.	0,8	ANP63	0,10	n.n.	n.n.	n.n.	0,8	ANP83	0,10	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,10	n.n.	n.n.	0,0									
ANP5	5,16	n.n.	n.n.	0,6	ANP26	5,04	n.n.	n.n.	0,4	ANP44	0,69	n.n.	n.n.	0,4	ANP64	0,00	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	ANP84	0,00	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,00	n.n.	n.n.	0,0									
ANP6	27,96	n.n.	n.n.	1,1	ANP28	20,83	n.n.	1	1,0	ANP45	1,12	n.n.	n.n.	1,0	ANP66	0,00	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	ANP86	0,00	n.n.	n.n.	n.n.	0,00	n.n.	n.n.	n.n.	0,0									
ANP8	28,59	n.n.		0,8	ANP29	11,78	n.n.	0,2	0,8	ANP46	7,12	n.n.	n.n.	0,4	ANP67	0,05	n.n.	n.n.	n.n.	0,4	ANP87	0,05	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,05	n.n.	n.n.	0,0									
ANP9	34,57	n.n.	n.n.	1,4						ANP49	12,80	n.n.	n.n.	1,0	ANP68	0,00	n.n.	n.n.	n.n.	1,0	ANP88	0,00	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,00	n.n.	n.n.	0,0									
MW	29,94			1,27	MW	10,24			0,67	MW	7,28			0,76	MW	0,04				0,76	MW	0,04				0,04				0,0									
Stabw	12,71			0,55	Stabw	6,33			0,31	Stabw	4,92			0,30	Stabw	0,04				0,30	Stabw	0,04				0,04				0,0									

Kontrolle					Kontrolle					Kontrolle					Kontrolle														
Tier (Nr.)					Tier (Nr.)					Tier (Nr.)					Tier (Nr.)					Tier (Nr.)					Tier (Nr.)				
K10	41,31	n.n.	n.n.	0,8	K30	12,18	n.n.	n.n.	0,8	K50	4,78	n.n.	n.n.	0,5	K70	n.n.	n.n.	n.n.	0,5	K70	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0
K12	36,82	n.n.	n.n.	1,4	K31	12,73	n.n.	n.n.	0,9	K51	13,90	n.n.	n.n.	0,5	K71	n.n.	n.n.	n.n.	0,5	K71	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0
K13	28,33	n.n.	n.n.	0,8	K32	14,46	n.n.	n.n.	1,0	K52	4,33	n.n.	n.n.	0,0	K72	n.n.	n.n.	n.n.	0,0	K72	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0
K14	30,39	n.n.	n.n.	1,4	K33	30,08	n.n.	n.n.	1,2	K53	6,72	n.n.	n.n.	0,6	K73	n.n.	n.n.	n.n.	0,6	K73	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0
K15	25,53	n.n.	n.n.	1,2	K35	20,22	n.n.	n.n.	1,1	K54	10,66	n.n.	n.n.	0,8	K74	n.n.	n.n.	n.n.	0,8	K74	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0
K16	33,40	n.n.	n.n.	1,2						K55	11,79	n.n.	n.n.	0,0	K75	n.n.	n.n.	n.n.	0,0	K75	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,0

MW	32,63	1,13	MW	17,93	1,00	MW	8,60	0,40
Stabw	5,79	0,27	Stabw	7,50	0,16	Stabw	3,63	0,30
t-test	0,68	0,59		0,09	0,06		0,57	0,07

Anhang 8: Die Einzelwerte der Konzentrationsmessungen in Serum (mg/l), Pankreas- und Muskelgewebe (mg/kg) für Meropenem (HPLC) nach i.v. Injektion von 20 mg/kg KG

10 Min. nach Gabe				30 Min. nach Gabe				60 Min. nach Gabe				120 Min. nach Gabe			
ANP				ANP				ANP				ANP			
Tier (Nr.)	Serum	Pankreas	Muskel	Tier (Nr.)	Serum	Pankreas	Muskel	Tier (Nr.)	Serum	Pankreas	Muskel	Tier (Nr.)	Serum	Pankreas	Muskel
ANP1	4,5	3,24	0	ANP21	0,61	3,36	0	ANP41	0	1,08	0	ANP61	4,06	5,56	0
ANP2	28,7	2,44	0	ANP22	1,5	3,9	0	ANP42	0,53	2,82	0	ANP62	0,75	1,94	0
ANP5	34,9	1,44	0	ANP23	0,93	1,18	0	ANP43	1,66	0	0	ANP63	2,81	3,22	0
ANP6	12,5	1,16	0	ANP24	8,55	1,6	0	ANP44	0	4,3	0	ANP64	4,46	1,56	0
ANP7	23,3	1,32	0	ANP25	1,5	4,38	0	ANP45	0	0	0	ANP65	2,12	6,4	0
ANP8	18,4	2,34	0	ANP26	0	2	0	ANP46	0,54	4,2	0	ANP66	0,6	3,84	0
ANP9	30,2	1,36	0	ANP28	1,74	2,16	0	ANP47	0	1,08	0	ANP67	2,97	3,68	0
ANP10	17,3	0,8	0	ANP29	0	3,32	0	ANP48	0	2,6	0	ANP68	3,39	1,8	0
MW	21,23	1,76	0,00	MW	1,85	2,74	0,00	MW	0,30	2,09	0,00	MW	2,35	3,82	0,00
Stabw	10,05	0,82	0,00	Stabw	2,79	1,16	0,00	Stabw	0,56	1,63	0,00	Stabw	1,59	1,91	0,00

Kontrolle				Kontrolle				Kontrolle				Kontrolle			
Tier (Nr.)	Serum	Pankreas	Muskel	Tier (Nr.)	Serum	Pankreas	Muskel	Tier (Nr.)	Serum	Pankreas	Muskel	Tier (Nr.)	Serum	Pankreas	Muskel
K11	26,6	2,22	0	K31	0	0,66	0	K51	2,45	1,02	0	K71	0	1,1	0
K12	25,4	0,9	0,6	K32	0,99	0,8	0	K52	2,02	0,62	0	K72	3,98	0,92	0
K13	24,5	1	0,6	K33	1,36	0,8	0	K53	2,66	0,74	0	K73	1,95	1,66	0
K14	14,5	0,48	0	K34	0	0	0	K54	0	0,7	0	K75	2,46	1,34	0
K15	28,6	0,96	0	K35	0,62	1,06	0	K56	2	0,68	0	K76	3,14	0,96	0
K16	32,6	1,18	0,6					K57	2,11	0,72	0	K77	2,2	1	0
MW	25,37	1,12	0,30	MW	0,59	0,66	0,00	MW	1,87	0,75	0,00	MW	2,29	1,16	0,00
Stabw	6,05	0,59	0,33	Stabw	0,60	0,40	0,00	Stabw	0,95	0,14	0,00	Stabw	1,34	0,29	0,00
t-Test	0,391	0,132			0,252	0,001			0,001	0,039			0,938	0,003	