

1 Einleitung und Problemstellung

Beim Aufbau von Biomembranen kann beim Säugetier von einer ausgerichteten Doppelschicht aus Lipidmolekülen sowie darin verankerten Membranproteinen ausgegangen werden, deren Verbindung und Zusammenhalt in erster Linie durch hydrophobe Wechselwirkungen begründet sind (81). Die elementaren Bausteine einer solchen Biomembran stellen dabei die Phospholipide dar. Auf Grund ihrer durch Esterbindungen hydrophilen sowie durch Veresterungen mit Fettsäuren hydrophoben Eigenschaften zählt man die Phospholipide zu den amphiphilen Molekülen. Dabei ist die entstehende sogenannte „Bilayer“-Form der Membranarchitektur so ausgerichtet, dass die hydrophoben Anteile jeweils an den Außenseiten der Membran zu finden sind und die hydrophilen Bestandteile nach innen gerichtet sind. Die enthaltenen Membranproteine sind dabei über einen Glykosyl-Phosphoinositol-Anteil N-terminal oder über hydrophobe Aminosäuresequenzen mit den Phospholipiden verbunden (57) und erfüllen durch Stofftransport, Signalerkennung und Signaltransfer essentielle Aufgaben für die Zelle (58,64). Die amphipolare Umgebung der Phospholipide ist für die Aufrechterhaltung der Proteinfunktion von wesentlicher Bedeutung. Eine Veränderung der Membranzusammensetzung geht daher auch mit einer Funktionseinschränkung der enthaltenen Membranproteine einher, was unter anderem für die Alanin-Aminopeptidase (AAP), die Na/K-ATPase, die Ca-ATPase, die Dipeptidylpeptidase (DPP IV) und die renale Dehydropeptidase I beschrieben werden konnte (52, 51, 45).

In Korrelation zur Temperatur können sich die Phospholipide in flüssig-kristallinem bis gelartigen Zustand befinden, so dass innerhalb der Membranen Bewegungsfreiheiten in mehreren Ebenen aufzufinden sind (25). Die so begründete Fluidität der Lipiddoppelschicht wurde erstmals von SINGER und NICOLSON 1972 in dem von ihnen beschriebenen „fluid-mosaic-model“ beschrieben. Dabei spielt die äußere Lipidschicht eine Schlüsselrolle in der Organisation der Zell-Plasmamembran als ein Mosaik aus geordneten Mikrodomänen, die mit Sphingolipiden und Cholesterol angereichert sind (62). Die funktionelle Einheit von Membranproteinen und deren engerer Umgebung, der Phospholipiddoppelschicht, ist für die Zelle von lebenswichtiger Bedeutung. Die Einwirkung externer Einflüsse auf die Membran (z.B. thermische Veränderungen, Einwirkung ionisierender Strahlung und Noxen) bewirken über Fluktuationsveränderungen und Bildung von „microscopic holes“ in der Membran teils erhebliche Permeabilitätsveränderungen (32).

Die im Rahmen therapeutischer Bestrahlung als Nebeneffekt auftretende Strahlenenteritis stellt als Symptomkomplex die Folge der Membranaffektionen nach Einwirkung ionisierender Strahlung dar. Häufig ergeben sich aus diesen Bestrahlungsnebenwirkungen, verbunden mit einer Reduktion der Patient compliance, Einschränkungen für das weitere Behandlungsregime (39).

Als quantitativer und qualitativer Ausdruck einer gestörten Membranintegrität und damit Permeabilitätserhöhung lassen sich im Dünndarmhomogenat nach Einwirkung ionisierender Bestrahlung deutliche Aktivitätsänderungen lysosomaler und membrangebundener Peptidasen nachweisen (18,14,19). Zur Untersuchung der Membranveränderungen nach lokal einwirkender Röntgenstrahlung, wurde in dieser Arbeit ein von BOSSMANN et al. 1984 etabliertes Verfahren eines Dünndarmperfusionmodells gewählt, bei dem erstmals durch in vivo Perfusion proximaler Dünndarmanteile von Ratten mit Ethanol sowie Tetrachlorkohlenstoff Aktivitätsänderungen verschiedener Peptidasen als Folge einer Membranintegritätsstörung gezeigt werden konnten (23). Dieses Verfahren wurde in vorausgegangenen tierexperimentellen Studien bereits verwendet, um nach Einwirkung einer partiellen abdominalen „low dose“- Bestrahlung von 2,0 Gy Bestimmungen der Eiweiß- und Phospholipidkonzentrationen sowie der Enzymaktivitätsänderungen vorzunehmen (36). Dabei konnten als Ausdruck eines Membranschadens, insbesondere für die lysosomal, also intrazellulär vorkommende Leucinaminopeptidase (LAP), signifikante Aktivitätserhöhungen im Perfusat nachgewiesen werden.

Um die Begleitreaktionen therapeutischer Bestrahlung zu minimieren, ist es daher von großem Interesse, die Destabilisierung der Membran zu reduzieren und sich anschließende Reparaturvorgänge zu beschleunigen.

In Erweiterung der Fragestellung der vorherigen Untersuchungen wurde ein möglicher radioprotektiver Effekt von Phosphatidylcholin (PPC) untersucht. Im Vorfeld einer auf das Abdomen begrenzten Bestrahlung, sollte eine dreiwöchige orale Verabreichung des Medikaments präventiv eine Stabilisierung der Membran bewirken.

Behandlungserfolge durch therapeutisches Verabreichen von essentiellen Phospholipiden konnten in der Vergangenheit bereits bei der Behandlung von chronischen und akuten Leberparenchymschädigungen und supportiv bei der Regeneration von Dünndarmmukosa nachgewiesen werden (56, 61, 66, 44, 30, 3). Eine perorale Vorbehandlung mit dem „Membranbaustein“ Phospholipid könnte daher, durch vorherige Stabilisation der Membranzusammensetzung, eine Reduzierung des intestinalen Schadensmusters der Strahlenwirkung herbeiführen. Die Interaktionen von essentiellen Phospholipiden mit den

Membranbereichen des Bürstensaums der proximalen Dünndarmabschnitte bei Ratten und deren mögliche protektive Wirkung auf eine nachfolgende Einwirkung ionisierender Strahlung ist Gegenstand dieser Arbeit.

Entsprechend vorangegangener Arbeiten mit dem Dünndarmperfusionsmodell (22,23,36) basierte der Versuchsaufbau erneut auf einer pumpengetriebenen in vivo Jejunumperfusion bei Ratten über einen Zeitraum von 150 Minuten. Untersucht wurde dabei ein proximales Dünndarmsegment von in therapeutischen Dosen bestrahlten, gleichaltrigen, weiblichen Wistar-Ratten, nachdem diese zuvor drei Wochen mit essentiellen Phospholipiden gefüttert wurden. Als Perfusionsmedium wurde Ringerlösung verwendet, aus welcher nach 30, 60, 120 und 150 Minuten Probeentnahmen zur Bestimmung der Aktivitäten der Peptidhydrolasen AAP, DPP IV, γ -Glutamyltranspeptidase (γ -GT), Glycyl-D-Leucin-Dipeptidase (GDL), LAP, sowie des Gesamtproteingehaltes (TP) und Phospholipidgehaltes (PL) entnommen wurden.

Die erhobenen Untersuchungen sollten Erkenntnisse erbringen, ob durch die exogene perorale Zufuhr von Phospholipiden, die den körpereigenen durch einen höheren Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren überlegen sind, die Möglichkeit einer protektiven, prophylaktischen Behandlung enteraler Strahlenreaktionen besteht.

Ähnliche präventive Effekte konnten bereits für mehrere Substanzen nachgewiesen werden. So konnten z.B. RIEHL et al. 2000 einen radioprotektiven Effekt durch die Gabe von Lipopolysacchariden 24 Stunden vor Bestrahlung nachweisen (75). Als möglicher Mechanismus wurde dabei eine durch Prostaglandin getriggerte Induktion einer Schleimhautprotektion vermutet, da nach Gabe eines Cyclooxygenaseantagonisten ein deutlich geringeres Benefit für das Dünndarmepithel nach Bestrahlung zu erkennen war.

Neben der grundsätzlichen Frage nach einem zytoprotektiven Effekt von PPC sollte als ein weiterer Aspekt dieser Arbeit eine mögliche Dosisabhängigkeit der PPC- Wirkung untersucht werden, so dass von uns der „low dose“- Bereich untersucht wurde. Es wurde zu diesem Zweck je einer Versuchstiergruppe 25 mg/kg Körpergewicht (KG), 50 mg/kg KG und 100 mg/kg KG peroral verabreicht.