

3 Ergebnisse

Nach Strahlenexposition im Rahmen therapeutischer Bestrahlungen sind oftmals enteritische Symptome und Malabsorptionszustände als Ausdruck eines Membranschadens der Dünndarmmukosa auffällig, die eine wesentliche Limitierung der Intensität und der Dauer der Radiotherapie darstellen (72). Als ursächlich für die funktionellen Störungen an der Darmschleimhaut, mit schweren Alterationen der Enterozyten selbst, wird eine Beeinflussung der Integrität der Membranstruktur nach ionisierender Strahlung angesehen (36). Diese findet ihren Ausdruck zunächst in einer Zunahme der Membranfluidität (47,20), die mit ausgeprägten, dosisabhängigen Permeabilitätsstörungen einhergeht (59,68) und sich schließlich in einer vermehrten Apoptoserate der Enterozyten widerspiegelt (74).

Es wurde untersucht, ob eine primärpräventive, perorale Gabe von essentiellen Phospholipiden über einen Zeitraum von drei Wochen strahleninduzierte Membranschäden kompensieren kann. In vorangegangenen Publikationen konnte gezeigt werden, dass der Applikation von PPC als physiologischem Membranbaustein ein membranprotektiver Effekt nach Einwirkung von unterschiedlichen Noxen zuzuschreiben ist (8,2,66,3,5).

Es wurden insgesamt drei Dosierungen von PPC (25 mg/kg KG, 50 mg/kg KG und 100 mg/kg KG) auf ihre membranprotektive Wirkung untersucht. Dazu wurden die entsprechenden Versuchstiergruppen (D,E,F) über einen Zeitraum von 21 Tagen aktiv mittels einer Knopfkanüle mit PPC gefüttert. Am 22. Tag erfolgten eine partielle 2 Gy-Bestrahlung des Abdomens und 20 Stunden danach anschließend, nach Dünndarmperfusion eines definierten Jejunumabschnittes, die Bestimmungen ausgewählter Enzymaktivitäten sowie des Phospholipid- und Proteingehaltes.

Die Kontrollgruppe (C) wurde in ähnlicher Weise behandelt. Statt PPC erhielten die Tiere dieser Versuchsgruppe allerdings lediglich Aqua d. Weiterhin wurde einer Gruppe (A) 21 Tage Aqua d. verabreicht ohne eine nachfolgende Bestrahlung anzuschließen, um die Beeinflussung der Prozedur der Fütterung und des Operationsverfahrens selbst zu untersuchen. Der Eigeneffekt des PPC wurde in einer anderen Versuchstiergruppe (B) kontrolliert, indem 3 Wochen PPC in einer Dosis von 100 mg/kg KG verabreicht und keine Bestrahlung durchgeführt wurde.

3.1 Ergebnisse der Kontrollgruppen

3.1.1 Enzymaktivitäten

Die Enzymaktivitäten der AAP, DPP IV, GDL und γ -GT der Kontrollgruppen A und B zeigten nur geringgradige, nicht signifikante Unterschiede in den durchgeführten Aktivitätsbestimmungen (Abb. 1-4).

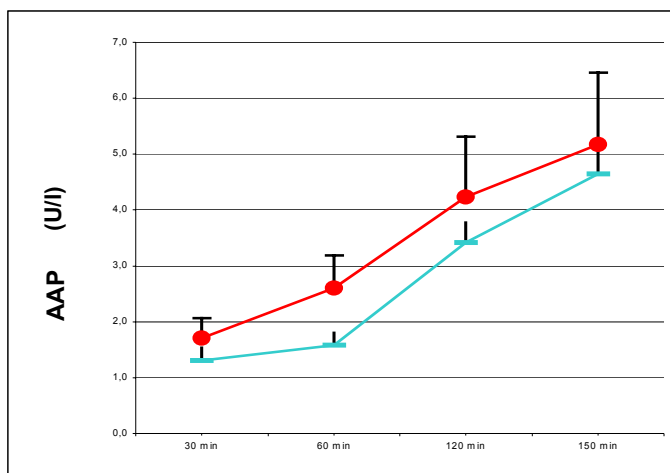


Abb.1 AAP- Aktivitäten der Gruppen A und B (n=6). Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE).

—●— PPC 100 (B)
—■— Aqua d. (A)

Abb.1

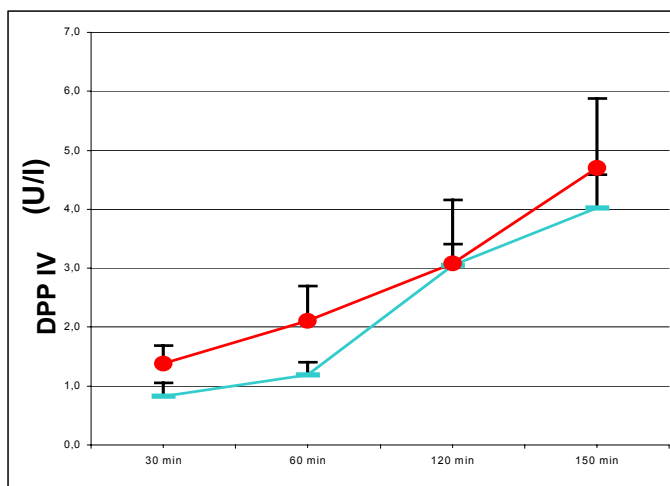


Abb. 2 DPP IV-Aktivitäten der Gruppen A und B (n=6). Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE).

—●— PPC 100 (B)
—■— Aqua d. (A)

Abb.2

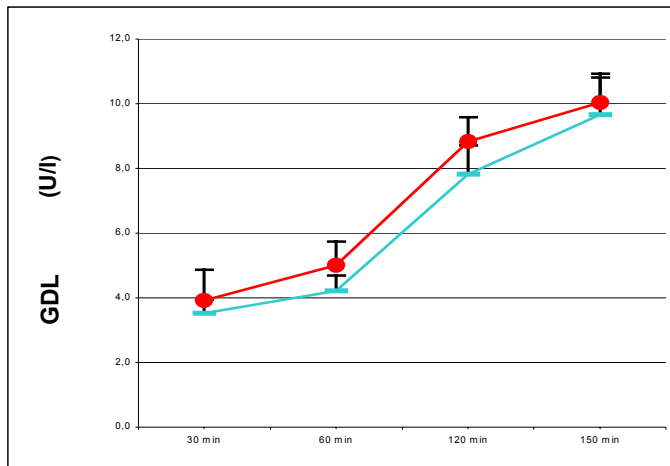


Abb.3

Abb.3 GDL-Aktivitäten der Gruppen A und B (n=6). Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE).

—●— PPC 100 (B)
—■— Aqua d. (A)

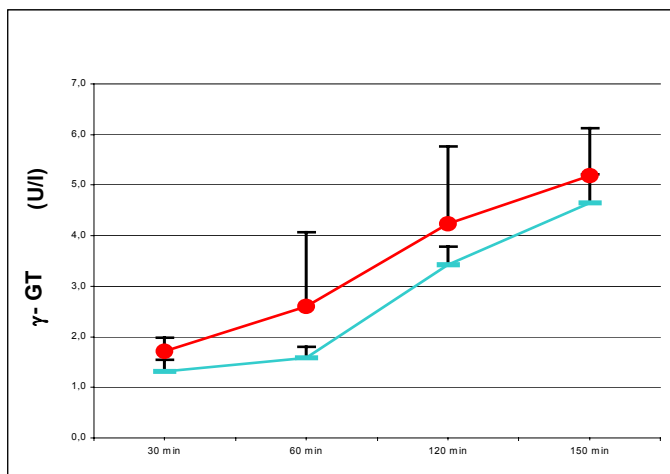


Abb.4

Abb.4 γ -GT der Gruppen A und B (n=6). Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE).

—●— PPC 100 (B)
—■— Aqua d. (A)

Bei den Enzymaktivitäten der LAP zeigten sich nach 30 Minuten im Vergleich zur Versuchsgruppe A zunächst nur mäßig gesteigerte Aktivitäten der Gruppe B. Im Verlauf waren diese jedoch ausgeprägter und erreichten vierfach höhere Werte im Vergleich zur Aqua d.- Gruppe nach 150 Minuten (Gruppe C: 23,2 U/l; Gruppe A: 5,6 U/l). Trotz der deutlich sichtbaren Abweichung der Mittelwerte der Untersuchung fand sich knapp kein statistisch signifikanter Unterschied (Abb. 5).

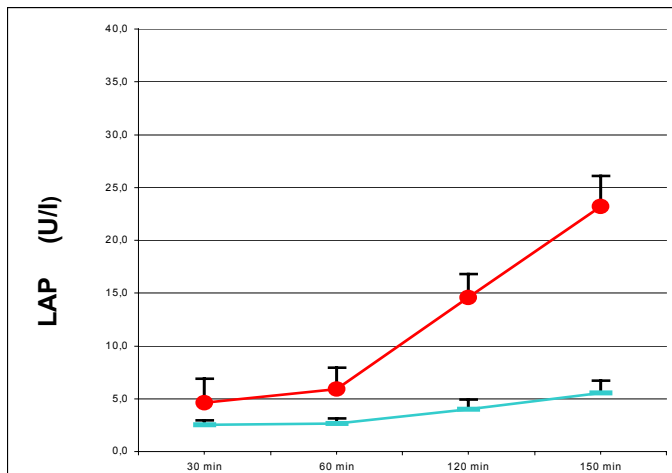


Abb. 5 LAP- Aktivität der Gruppen A und B (n=6). Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE).

—●— PPC 100 (B)
—■— Aqua d. (A)

Abb.5

3.1.2 Gesamteiweiß- und Phospholipidgehalt

Verglichen mit der mit 100 mg/kg KG PPC behandelten Gruppe (B) konnten in der Versuchsgruppe A zum Zeitpunkt der ersten Bestimmung nach 30 Minuten nur etwa 60 % der Eiweißkonzentrationen gemessen werden. Im weiteren Verlauf bis zum Ende der Untersuchung gestaltete sich der Unterschied noch deutlicher (Abb.6), jedoch konnte trotz der Differenz keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden.

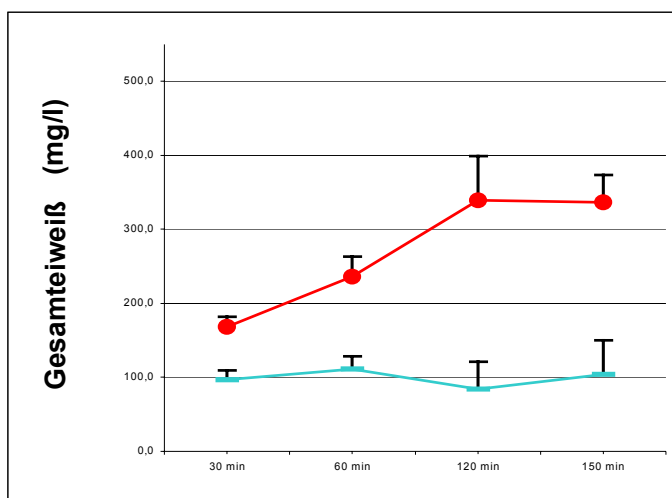


Abb. 6 Eiweißkonzentrationen der Gruppen A und B (n=6) . Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE).

—●— PPC 100 (B)
—■— Aqua d. (A)

Abb.6

Die Phospholipidkonzentrationen zeigten ein ähnliches Verteilungsmuster, die Differenzen zwischen den beiden Gruppen waren insbesondere an den Endpunkten ausgeprägter. Aber auch hier konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Abb. 7).

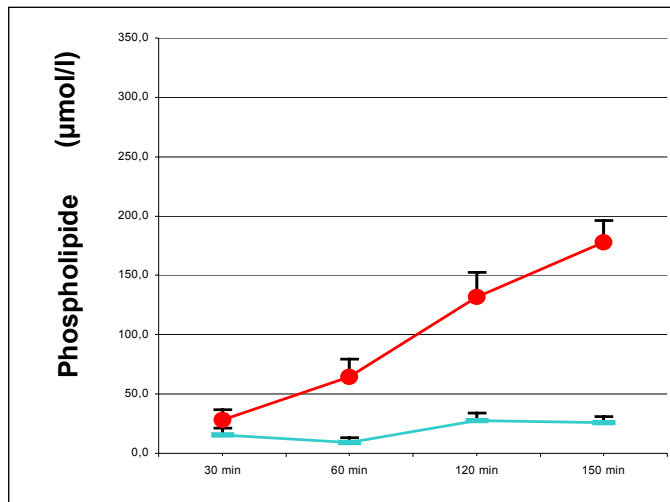


Abb. 7 Phospholipidkonzentrationen der Gruppen A und B (n=6). Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE).

—●— PPC 100 (B)
—■— Aqua d. (A)

Abb.7

3.2 Perorale Verabreichung von PPC und Bestrahlung mit 2 Gy

In drei unterschiedlichen Dosierungen erhielten die Versuchstiere PPC über einen Zeitraum von 21 Tagen (Gruppe D 25 mg/kg KG, Gruppe E 50 mg/kg KG und Gruppe F 100 mg/kg KG). Nach einer auf das Abdomen begrenzten Bestrahlung von 2 Gy am 22. Tag wurden am 23.Tag, in adäquater Verfahrensweise zu den nicht bestrahlten Gruppen, mit Hilfe des Dünndarmperfusionsmodells die Enzymaktivitäten sowie die Protein- und Phospholipidkonzentrationen bestimmt. Die Ratten der Gruppe C erhielten im Gegensatz dazu statt PPC Aqua d. und dienten für dieses Procedere bei sonst analoger Behandlung als Placebogruppe.

3.2.1 Aktivitäten der Enzyme

Bei der AAP bewegte sich das Niveau der Aktivitäten der Gruppe F (PPC 100 mg/kg KG) am Endpunkt nahezu auf dem gleichen Level wie das der Placebogruppe. Die beiden

Versuchsgruppen mit der mittleren sowie niedrigen Dosierung lagen deutlich unter dem Niveau der Placebogruppe. Dabei konnte in der Gruppe E (PPC 50 mg/kg KG) eine statistische Signifikanz nach 120 Minuten dokumentiert werden ($p < 0,04$). Die Gruppe D (PPC 25 mg/kg KG) zeigte nach 120 Minuten ebenfalls signifikant erniedrigte Enzymaktivität ($p < 0,02$). Noch deutlicher hob sich das Ergebnis jedoch nach 150 Minuten ab, als in dieser Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe mit $p < 0,004$ sogar eine hochsignifikante Reduzierung der Aktivität festgestellt werden konnte (Abb. 8).

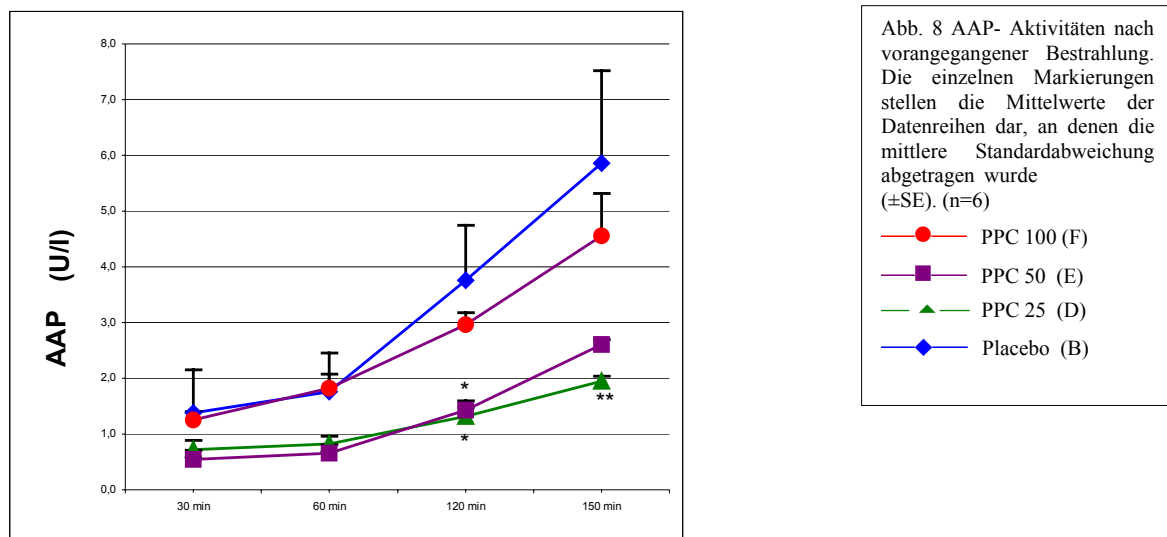


Abb.8

Bei den anderen untersuchten Enzymen DPP IV, GDL, γ -GT und LAP (Abb.9-12) fanden sich unter Behandlung mit PPC in einer Dosis von 100 mg/kg Kg PPC keine Reduktion der messbaren Enzymaktivitäten im Perfusat. Unter Vorbehandlung und Bestrahlung mit der genannten Dosis zeigten sich Aktivitäten, die teilweise relevant über denen der Kontrollgruppe lagen, im Falle der DPP IV etwa 20 % und bei der LAP noch deutlicher, was sich auch mit einem $p < 0,05$ nach 120 min als statistisch signifikant darstellte.

Wurden die Versuchstiere bestrahlt und hatten zuvor über 21 Tage PPC in einer Dosierung von 25 oder 50 mg/kg Kg PPC erhalten, stellte sich ein anderes Bild dar. Bei der AAP, der γ -GT, der DPP IV, der LAP und GDL lagen die Enzymaktivitäten deutlich niedriger, nämlich durchgehend nur bei ein bis zwei Drittel der Aktivitäten der Kontrollgruppe. Statistisch signifikante Unterschiede im Vergleich der beiden Dosierungen ließen sich jedoch nur in der Gruppe D bei der Betrachtung der γ -GT- Werte nachweisen (Abb. 9-12).

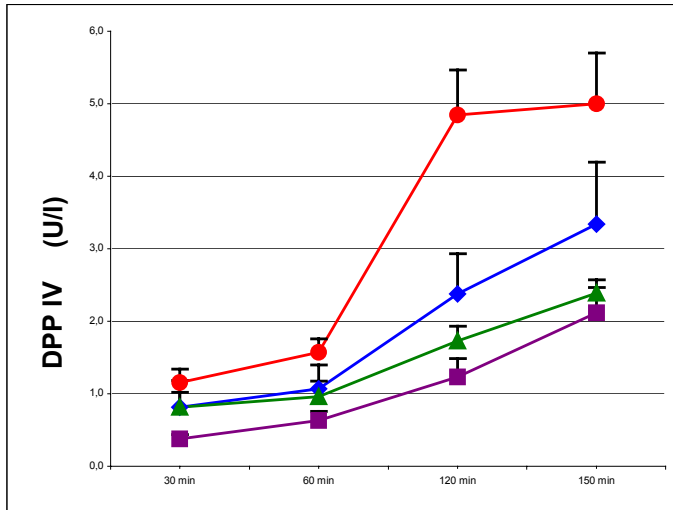


Abb.9

Abb. 9 DPP IV- Aktivitäten nach vorangegangener Bestrahlung. Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde. (\pm SE). (n=6)

- PPC 100 (F)
- PPC 50 (E)
- ▲ PPC 25 (D)
- ◆ Placebo (B)

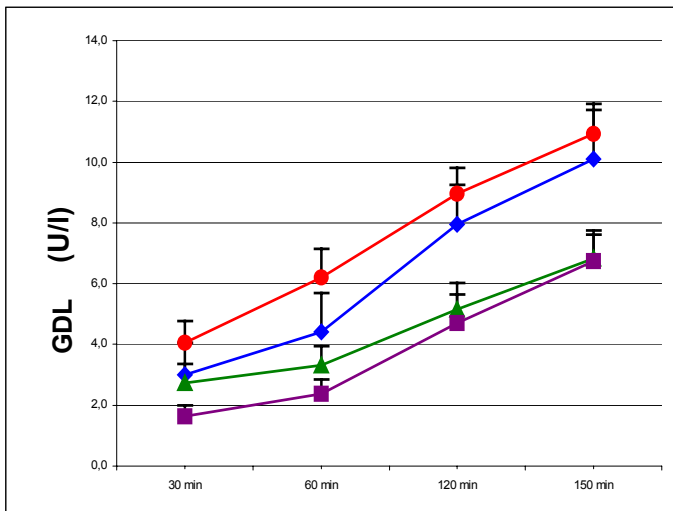


Abb.10

Abb. 10 GDL- Aktivitäten nach vorangegangener Bestrahlung. Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE). (n=6)

- PPC 100 (F)
- PPC 50 (E)
- ▲ PPC 25 (D)
- ◆ Placebo (B)

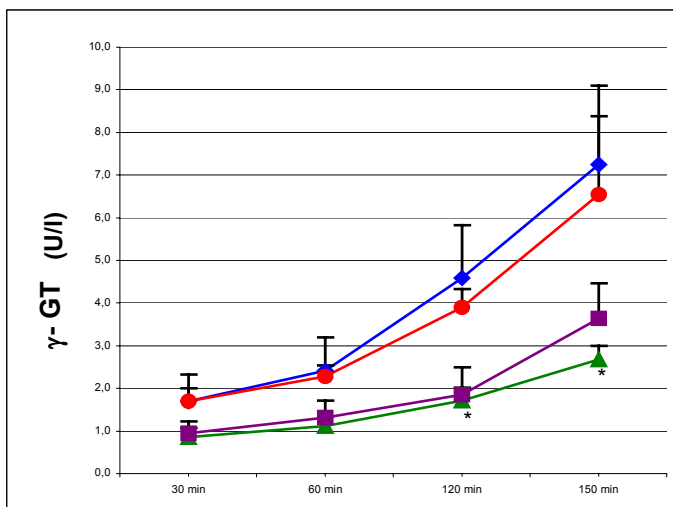


Abb.11

Abb. 11 γ -GT-Aktivitäten nach vorangegangener Bestrahlung. Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE). (* $p < 0,05$). (n=6)

- PPC 100 (F)
- PPC 50 (E)
- ▲ PPC 25 (D)
- ◆ Placebo (B)

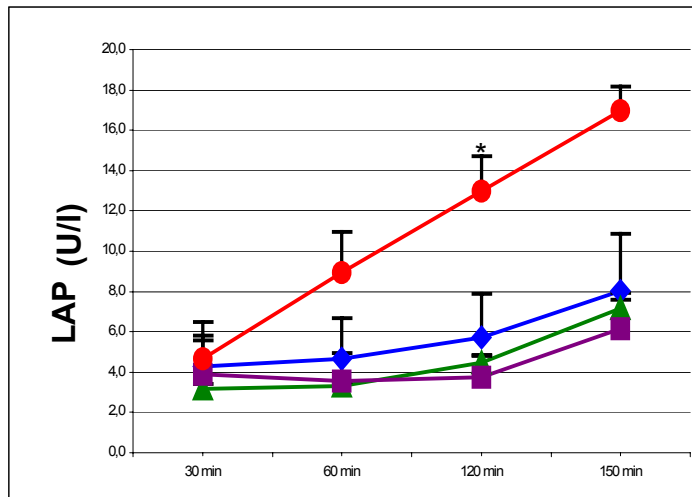


Abb. 12 LAP- Aktivitäten nach vorangegangener Bestrahlung. Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE). (* $p < 0,05$) (n=6)

—●— PPC 100 (F)
 —■— PPC 50 (E)
 —▲— PPC 25 (D)
 —◆— Placebo (B)

Abb.12

3.2.2 Verhalten der Gesamteiweißkonzentrationen

Verglichen mit den Tieren der Gruppe B war zum Ende der Beobachtungszeit bei der mittleren und niedrigen Dosis von 50 mg/kg KG PPC beziehungsweise 25 mg/kg KG der Testsubstanz eine Reduktion der nachweisbaren Eiweißkonzentration um 23 % bzw. 42 % ($p < 0,04$) feststellbar. Für die mit PPC 100 mg/kg KG PPC behandelten Ratten ergab sich hier kein Behandlungsvorteil in Bezug auf eine mögliche Strahlenprotektion. Die Mittelwerte dieser Gruppe lagen stets über denen der Kontrollgruppe nach 60 min und nach 150 min mit nachweisbarer Signifikanz ($p < 0,01$; $p < 0,03$) (Abb.13).

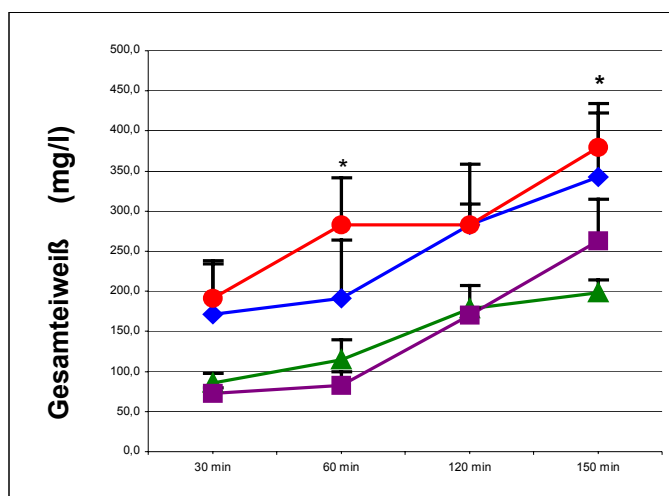


Abb. 13 Gesamteiweißgehalt nach vorangegangener Bestrahlung mit 2 Gy. Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde (\pm SE). (* $p < 0,05$) (n=6)

—●— PPC 100 (F)
 —■— PPC 50 (E)
 —▲— PPC 25 (D)
 —◆— Placebo (B)

Abb.13

3.2.3 Verhalten der Phospholipide

Ähnlich den Enzymkonzentrationen war festzustellen, dass im gesamten Perfusionsverlauf die Phospholipidkonzentrationen der Gruppe F erheblich höher lagen als die der Kontrollgruppe. Am Endpunkt der Untersuchung nach 150 min mit 147 $\mu\text{mol/l}$ sogar mehr als 100% im Vergleich zur Placebogruppe (66,7 $\mu\text{mol/l}$).

Die Behandlung mit niedrig dosiertem PPC führte dagegen zu einer deutlichen Verminderung der im Perfusat nachweisbaren Phospholipidkonzentrationen. Dabei fanden sich insbesondere bei Gruppe E signifikant geringere Konzentrationen (nach 60 min $p < 0,11$; nach 120 min $p < 0,01$; nach 150 Minuten $p < 0,03$ (Abb.14)).

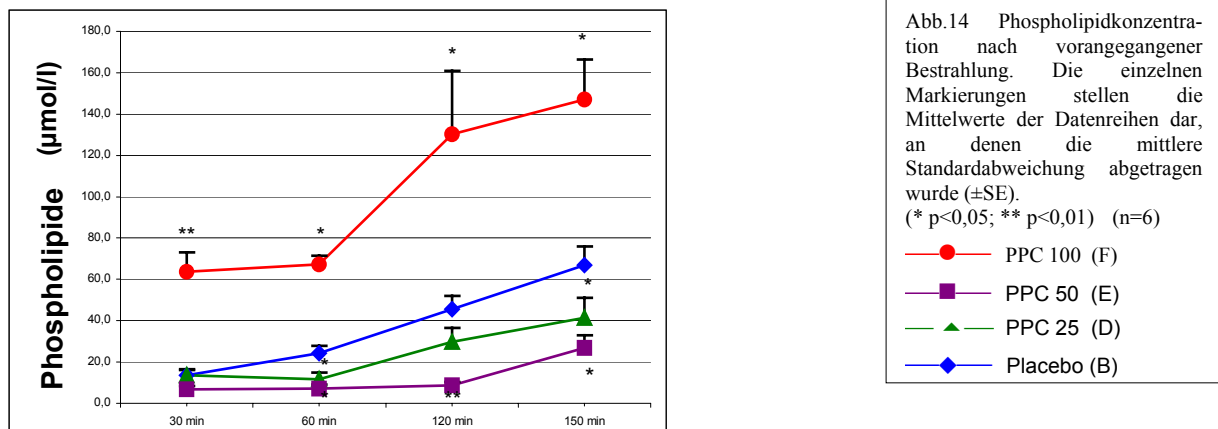


Abb.14

Abb.14 Phospholipidkonzentration nach vorangegangener Bestrahlung. Die einzelnen Markierungen stellen die Mittelwerte der Datenreihen dar, an denen die mittlere Standardabweichung abgetragen wurde ($\pm\text{SE}$). (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$) ($n=6$)

- PPC 100 (F)
- PPC 50 (E)
- ▲— PPC 25 (D)
- ◆— Placebo (B)