

Morphologische Befunde bei der akuten Pankreatitis im Tiermodell

Markus M. Lerch, Guido Adler

Medizinische Klinik I, Universität Ulm, BRD

Einleitung

Die uns aus der Pathologie vertrauten morphologischen Befunde bei der akuten Pankreatitis repräsentieren fast immer den Endzustand der hämorrhagischen Nekrose der Bauchspeicheldrüse. Weder ist es möglich aus autolytisch verändertem Autopsiematerial Aussagen zur Pathogenese der Erkrankung abzuleiten, noch werden Patienten in der Frühphase der Erkrankung operiert, so daß auch kein Operationsmaterial leichter Pankreatitiden zur Verfügung steht. Aus diesem Grund wurden seit über 100 Jahren immer wieder neue Tiermodelle erdacht, die zur Untersuchung der akuten Pankreatitis geeignet sein sollen.

Pankreatitis durch Injektion in den Pankreasgang

Der erste, der im Tierexperiment eine Pankreatitis erzeugt hat (ob versehentlich oder absichtlich wissen wir nicht), war Claude Bernard vor 130 Jahren. Seit seinen Versuchen hat die Möglichkeit, durch Injektion von Galle, Gallenbestandteilen und zahlreichen anderen Chemikalien in den Pankreasgang eine Pankreatitis auszulösen, die Phantasie vieler Untersucher beflügelt. Bis zum heutigen Tage werden immer wieder Modifikationen empfohlen, nach denen sich auf diese Weise eine standardisierte und reproduzierbare akute Pankreatitis erzeugen läßt [1, 2]. Obwohl die Injektion von Galle, unter Druck, in den Pankreasgang keineswegs einem pathophysiologischen Mechanismus beim Menschen entspricht, ähnelt der daraus resultierende mor-

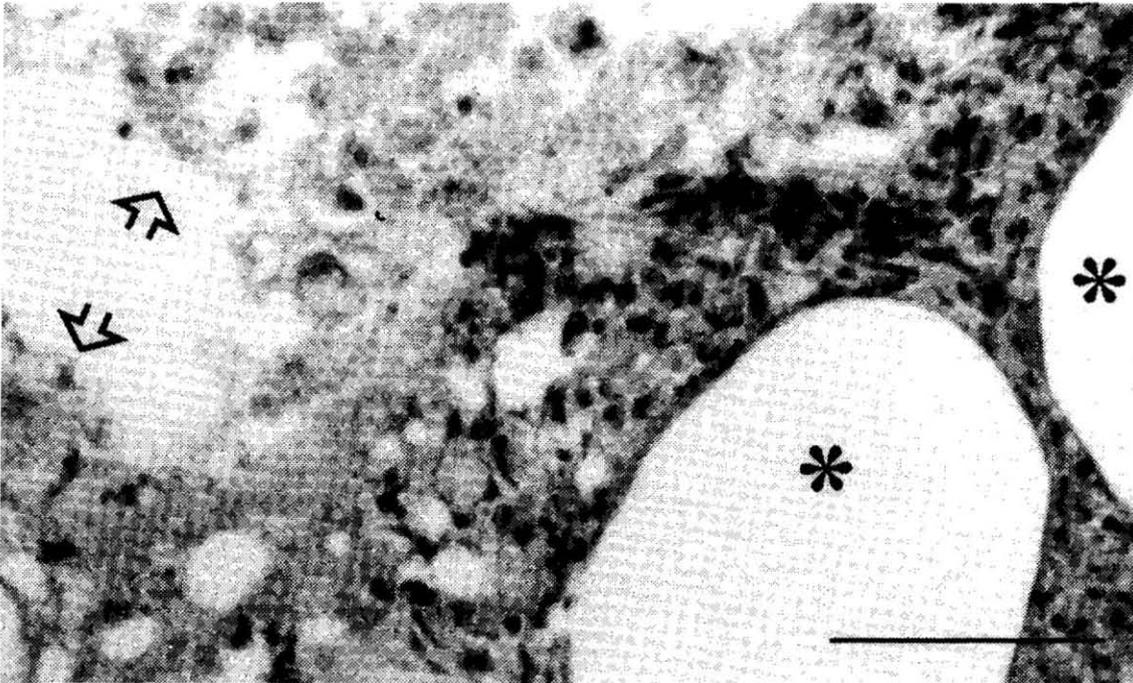


Abb. 1. Taurocholapatankreatitis. Durch Injektion einer gallensalzhaltigen Lösung wurde bei diesem Versuchstier eine akute Pankreatitis ausgelöst. Die morphologischen Veränderungen nach 3 h unterscheiden sich hinsichtlich der charakteristischen Verflüssigungsnekrosen ganzer Azini (Pfeile) und der benachbarten Fettgewebnekrosen (Asterisks) wenig von der nekrotisierenden Pankreatitis beim Menschen. Paraffinhistologie. HE Färbung. Kalibration 100 μ m.

phologische Schaden weitgehend der hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis in der Klinik. Durch die chemische Noxe und den zusätzlichen Druck kommt es in kürzester Zeit zu einer Auflösung der apikalen Zellmembranen mit konsekutivem Untergang von Azinuszellen. Im zeitlichen Zusammenhang treten ein ausgeprägtes Ödem des Organs, perilobuläre Fettnekrosen und durch die Gefäßschädigung eine ausgeprägte Hämorrhagie auf. Dieses Tiermodell erscheint heute nicht mehr geeignet, um pathophysiologische oder zellbiologische Zusammenhänge bei der Pankreatitis zu untersuchen. Es ist allerdings brauchbar für therapeutische Ansätze im Tierexperiment. Obwohl immer wieder empfohlen und veröffentlicht, eignet sich hierbei das Ausmaß der direkten Zellschädigung wenig als Verlaufsparemeter. Dagegen sind die systemischen Konsequenzen wie Schock, pulmonale Veränderungen, akute Niereninsuffizienz und Flüssigkeits- und Elektrolytverschiebungen sowie deren therapeutische Beeinflussbarkeit im Ganginjektionsmodell sehr gut zu untersuchen.

Pankreatitis durch Duodenalligatur

Ähnliches gilt für das von Pfeffer et al. [3] etablierte Modell der isolierten Duodenalschlinge. Hierbei wird das Duodenum proximal und distal der Papille operativ ligiert und die Magen-Darm-Passage durch eine Anastomose wiederhergestellt. In der Folge kommt es zu einer erheblichen Druckerhöhung im betroffenen Duodenalsegment und einer Papilleninsuffizienz mit Reflux von Duodenalinhalt in die Pankreas- und Gallengänge. Auch hierbei muß von einer ausgesprochen unphysiologischen Situation ausgegangen werden, die keinerlei Rückschlüsse auf die Pathophysiologie der menschlichen Pankreatitis zuläßt. Da sich beim Pfeffer-Modell jedoch ähnliche hämorrhagisch-nekrotisierende Veränderungen mit einer zusätzlichen bakteriellen Besiedlung des betroffenen Parenchyms einstellen, eignet sich dieses Modell besonders, um die bakteriellen Veränderungen und Konsequenzen bei akuter Pankreatitis zu untersuchen. Dies ist von besonderer Relevanz für therapeutische Studien von antimikrobiellen Substanzen, da die Spätmortalität der akuten humanen Pankreatitis überwiegend auf bakteriell infektiöse Prozesse mit Lokalisation im Pankreas zurückgeht [4].

Pankreatitis durch chirurgische Blockade der Sekretion

Zur Untersuchung der Pathophysiologie der Pankreatitis eignen sich ausschließlich weniger invasive Verfahren. Das historisch jüngste dieser Modelle ist die akute, biliäre Pankreatitis beim amerikanischen Opossum. Dieses exotische Beuteltier von der Größe einer Katze findet vor allen Dingen deshalb Verwendung, weil es sich um das einzige bekannte Labortier handelt, bei dem es zu einer hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis kommt, nachdem lediglich der duodenale Sphinkter ligiert worden ist. Bei allen anderen Laborspezies entwickelt sich nach diesem wenig invasiven Eingriff lediglich eine Atrophie des Pankreas, aber keine hämorrhagische Nekrose. Genutzt wurde dieses biliäre Modell der Pankreatitis bisher vorwiegend, um Fragen der Pathophysiologie bei Gallensteinpankreatitis zu klären. So konnte kürzlich gezeigt werden, daß die Pankreasazinuszelle die primäre Lokalisation der Pankreatitis darstellt [5] und nicht wie bisher geglaubt, die perilobuläre Fettnekrose oder die periduktale

Entzündung [6, 7]. Im weiteren gibt dieses Tiermodell Hinweise darauf, daß keineswegs wie bisher angenommen, ein Reflux von Galle in das Pankreas erforderlich ist, um bei Steineinklemmung an der Papille eine akute Pankreatitis auszulösen [8], sondern daß die Flußbehinderungen des Pankreassekretes das entscheidende pathophysiologische Ereignis darstellt [9]. Daneben wurde dieses biliäre Modell auch bereits zu therapeutischen Studien eingesetzt [10, 11] und bietet in seiner ganzen morphologischen Ausprägung ein ähnliches Bild wie die hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis beim Menschen oder wie bei den oben aufgeführten invasiven Modellen.

Pankreatitis durch supramaximale Stimulation

Zur Untersuchung der zellbiologischen Veränderungen, die zur Pankreatitis führen oder dieser sogar vorausgehen, eignen sich vorwiegend vollständig nichtinvasive Tiermodelle. Hier hat sich vor allem die Caeruleinpankreatitis seit Jahren etabliert [12]. Durch intravenöse oder intraperitoneale Applikation einer supraphysiologischen Dosis des Cholezystokininanaloges Caerulein kommt es bei Ratten und Mäusen [13] zu einer akuten, ödematösen Pankreatitis. Der Krankheitsverlauf ist relativ mild, selbstlimitierend und geht weder mit einer signifikanten Blutung noch mit erheblichen Zellnekrosen einher. Im Vordergrund der morphologischen Befunde steht ganz das ausgeprägte interstitielle Ödem sowie die massive Bildung von intrazellulären, autophagen Vakuolen. Diese Vakuolen haben zu zahlreichen Kontroversen um die Pathophysiologie der Pankreatitis geführt. Sie stellen die wahrscheinlichste Lokalisation für die vorzeitige Aktivierung von Proteasen dar. Obwohl das Pankreas sich durch verschiedene Schutzmechanismen gegen den Einfluß seiner eigenen, eiweißspaltenden Enzyme zu schützen weiß, wird seit den Arbeiten von Chiari [14] angenommen, daß eine Selbstverdauung des Pankreas den entscheidenden Schritt zur Organnekrose darstellt. Verschiedene Hypothesen zur intrazellulären Aktivierung wurden bis heute vorgeschlagen. Zum einen fusionieren die autophagen Vakuolen nicht nur mit Zymogengranula und untereinander, sondern auch mit den basolateralen Zellmembranen. Diese Zellgrenzen sind nicht zur Exozytose von Sekretionsmaterial vorgesehen und haben keinen Zugang zum Azinusbinnenraum. Hierdurch könnten Pankreasenzyme rasch ins Interstitium gelan-

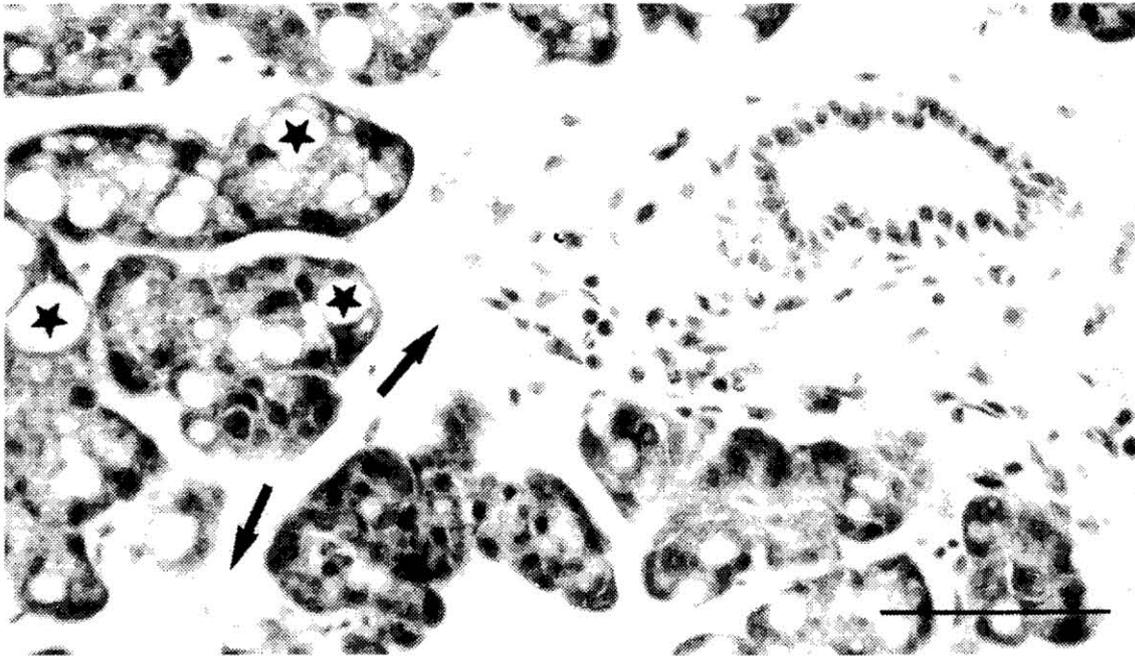


Abb. 2. Stimulationspankreatitis. Durch 4stündige Infusion einer supramaximalen Dosis des synthetischen Cholezystokininanalogon Caerulein wurde bei diesem Versuchstier eine ödematische Pankreatitis induziert. Beachte die massive intrazelluläre Vakuolisierung (Asterisks), die Aufweitung des Interstitiums durch Ödemflüssigkeit (Pfeile) und das Fehlen von Parenchymnekrosen. Paraffinhistologie. HE Färbung. Kalibration 100 μ m.

gen und durch bisher nicht geklärte Mechanismen einer Aktivierung unterliegen. Die Folge wäre eine Auflösung der Zellmembranen und somit die Nekrose der betroffenen Azinuszelle sowie der benachbarten Zellen [15].

Einen alternativen Vorgang bietet die Hypothese um die intrazelluläre Aktivierung durch lysosomale Enzyme an. Lysosomale Hydrolasen werden unter physiologischen Bedingungen im Golgi-Apparat von Sekretionsenzymen getrennt und in einen nicht sezernierbaren, membrangebundenen Pol eingeschleust. Diese sogenannten Lysosomen erfüllen die Funktion des Abbaus von in der Zelle nicht mehr gebrauchten Eiweißen und Organellen. Im Gegensatz zu den in Zymogengranula gespeicherten Verdauungsenzymen werden lysosomale Enzyme unter physiologischen Bedingungen nicht signifikant von der Zelle freigesetzt. Bei der Caeruleinpankreatitis und auch anderen Tiermodellen kommt es zu einer Kolokalisation von lysosomalen Enzymen mit Proteasen in den oben genannten autophagen Vakuolen [16, 17]. Da *in vitro* gezeigt wurde, daß lysosomales Kathep-

sin B Trypsinogen in seine aktive Form überführen kann [18], bestünde die Möglichkeit, daß eine entsprechende tryptische Aktivierung in den autophagen Vakuolen der Pankreatitis stattfindet [19]. Ob dies der auslösende Mechanismus für die Azinuszellnekrose der Pankreatitis darstellt, bleibt vorläufig umstritten, weil eine Kolokalisation von lysosomalen Hydrolasen und Verdauungsenzymen auch bis zu einem gewissen Grade in normalen Zymogengranula vorkommt [20], und weil eine der Pankreatitis ähnliche Umverteilung von lysosomalen Hydrolasen in die Zymogengranula und vakuolenhaltige subzelluläre Fraktion auch durch andere Mechanismen, die der Pankreatitis völlig unverwandt sind, erzeugt werden kann [21].

Eine dritte Hypothese, die die Aktivierung von Proteasen in der Azinuszelle zu erklären versucht, ist die der Autoaktivierung. Nur wenige Moleküle aktiven Trypsins reichen aus, um auch unter physiologischen Bedingungen die ganze Aktivierungskaskade von Verdauungsenzymen in Gang zu setzen [22]. Denkbar wäre, daß einer der intrazellulären Schutzmechanismen wie zum Beispiel die Menge von Proteaseninhibitor oder der schützende pH in der Frühphase der Erkrankung so verändert werden, daß es zu einer solchen Autoaktivierung von Trypsinogen zu Trypsin kommt.

Pankreatitis durch CDE-Diät

Ein weiteres, nichtinvasives Tiermodell, das im Gegensatz zur Caeruleinpankreatitis mit einer erheblichen Mortalität einhergeht, ist die CDE-Diät-Pankreatitis. Hierbei wird jungen, weiblichen Mäusen eine cholindefiziente ethioninsupplementierte Diät verabreicht [23]. Wird diese Diät kontinuierlich gefüttert und keine andere Nahrung zugeführt, kommt es innerhalb 1 Woche zu einer Mortalität von 100%, wobei die Tiere an einer hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis versterben. Um dieses Modell für therapeutische Studien geeignet zu machen, wird die Diät nur für 24–36 h verfüttert, was dann in einer Mortalität von zirka 50% resultiert. Dieses nichtinvasive Modell wird überwiegend durch die Pankreastoxizität des Ethionins hervorgerufen und hat keinerlei Ähnlichkeiten mit der Pathophysiologie der menschlichen Pankreatitis [24]. Dennoch wurden verschiedene zellbiologische Mechanismen an diesem Modell geklärt. Beispielsweise kann als gesichert angenommen werden, daß es bei der Pankreatitis zur Blok-

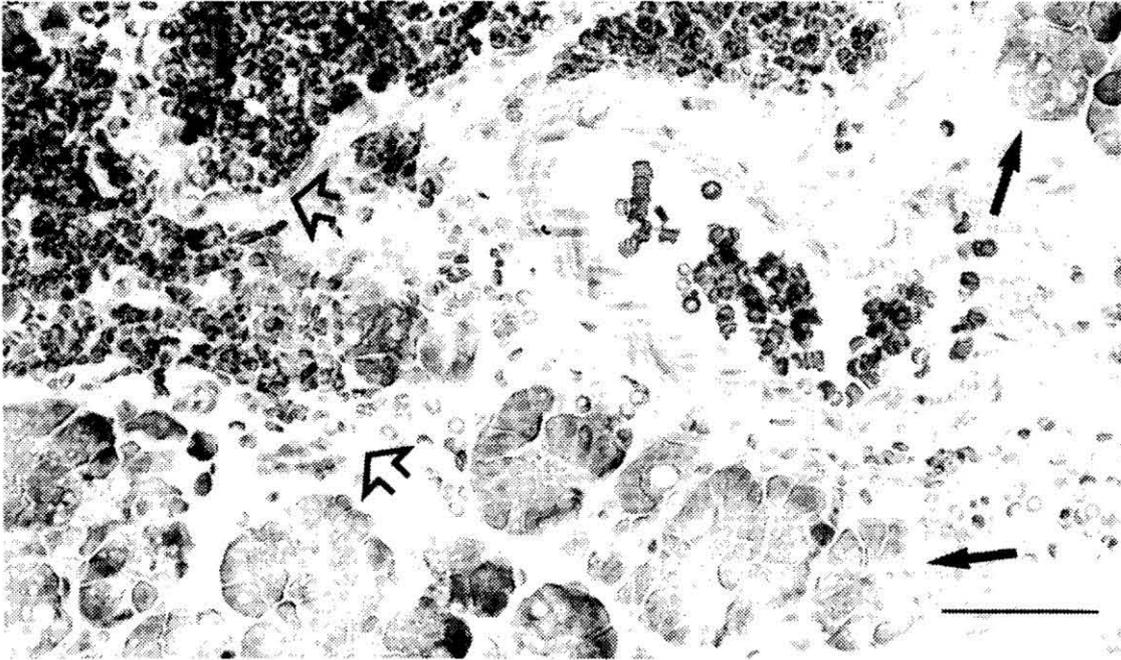


Abb. 3. CDE-Diät-Pankreatitis. Vier Tage nach Fütterung der ehtioninhaltigen Diät leidet dieses Tier an einer schweren hämorrhagisch-nekrotisierenden Pankreatitis. Bei nur vereinzelt intrazellulären Vakuolen stehen ganz die Azinuszellnekrosen (geschlossene Pfeile) und die Parenchymeinblutungen im Vordergrund (offene Pfeile). Paraffinhistologie. HE Färbung. Kalibration 100 μm .

kade der Sekretion kommt. Dies ist im übrigen ein Phänomen, das alle experimentellen Ansätze der Pankreatitis miteinander teilen. Bei der durch CDE-Diät induzierten Pankreatitis konnte als Ursache eine Verminderung der durch Inositoltriphosphat vermittelten Signaltransduktion gesichert werden [25].

Schlußfolgerung

Neben den hier aufgeführten gibt es zahllose Ansätze, im Versuchstier eine akute Pankreatitis zu erzeugen. Die meisten davon haben sich nicht durchgesetzt und die hier genannten stellen die am besten standardisierten und am breitesten verwendeten Modelle dar. Es bleibt zu betonen, daß es kein perfektes Tiermodell zur Nachahmung der menschlichen Verhältnisse gibt. Abhängig von der Fragestellung oder vom physiologischen oder zellbiologischen Ansatz sind unterschiedliche Tiermodelle zur Untersuchung geeignet. Ein Alko-

holmodell, das der alkoholinduzierten Pankreatitis des Menschen vergleichbar wäre, gibt es trotz zahlreicher Etablierungsversuche bis heute nicht. Zur Untersuchung zellphysiologischer und zellbiologischer Zusammenhänge eignen sich am ehesten die nichtinvasiven Versuchsansätze, während therapeutische Studien oft an den invasiven Modellen durchgeführt werden. Bei letzteren entspricht der morphologische Befund sehr häufig der hämorrhagischen Pankreasnekrose des Menschen, wobei dies nicht vom auslösenden Schaden, sei er traumatisch, chemisch oder chirurgisch gesetzt, abhängt.

Literatur

- 1 Aho HJ, Nevalainen TJ: Experimental pancreatitis in rats. Ultrastructure of sodium taurocholate-induced pancreatic lesions. *Scand J Gastroenterol* 1980;15: 417–428.
- 2 Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT, Warshaw AL: A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg* 1992;215:44–56.
- 3 Pfeffer RB, Stasior O, Hinton JW: The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic pancreatitis in the dog. *Surg Forum* 1957;8:248–251.
- 4 Beger HG, Bittner R, Block S, Büchler M: Bacterial contamination of pancreatic necrosis. *Gastroenterology* 1986;91:433–438.
- 5 Lerch MM, Saluja AK, Dawra R, Ramarao P, Saluja M, Steer ML: Acute necrotizing pancreatitis in the opossum: Earliest morphologic changes involve acinar cells. *Gastroenterology* 1992;103:205–213.
- 6 Kloeppel G, Dreyer T, Willemer S, Kern HF, Adler G: Human acute pancreatitis: Its pathogenesis in the light of immunocytochemical and ultrastructural findings in acinar cells. *Virchows Arch [A]* 1986;409:791–803.
- 7 Foulis AK: Histological evidence of initiating factors in acute necrotizing pancreatitis in man. *J Clin Pathol* 1980;33:1123–1131.
- 8 Opie EL: The etiology of acute hemorrhagic pancreatitis. *Johns Hopkins Hosp Bull* 1901;12:182–188.
- 9 Lerch MM, Saluja A, Rünzi M, Dawra R, Saluja M, Steer ML: Pancreatic duct obstruction triggers acute necrotizing pancreatitis in the opossum. *Gastroenterology* 1993;104:853–861.
- 10 Rünzi M, Saluja AK, Lerch MM, Dawra R, Saluja M, Maitre N, Nishino N, Steer ML: Severity of acute pancreatitis in opossum depends upon the duration of bilio-pancreatic duct obstruction and can be halted by relief of obstruction. *Pancreas* 1992;7:754.
- 11 Ramirez R, Brems J, Lee T, Kaminski DL: The effect of 16,16-dimethyl prostaglandin E2 on experimental bile reflux pancreatitis in the opossum. *Surg Gastroenterol* 1984;3:60–68.

- 12 Adler G, Hupp T, Kern HF: Course and spontaneous regression of acute pancreatitis in the rat. *Virchows Archiv [A]* 1979;382:31–47.
- 13 Niederau C, Ferrell LD, Grendell JH: Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice: Protective effects of proglumide, benzotrypt, and secretin. *Gastroenterology* 1985;88:1192–1204.
- 14 Chiari H: Über die Selbstverdauung des menschlichen Pankreas. *Z Heilk* 1896;17:69–96.
- 15 Adler G, Rohr G, Kern HF: Alteration of membrane fusion as a cause of acute pancreatitis in the rat. *Dig Dis Sci* 1982;27:993–1002.
- 16 Watanabe O, Baccino FM, Steer ML, Meldolesi J: Supramaximal caerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatic acinar cells: Early morphologic changes during development of experimental pancreatitis. *Am J Physiol* 1984; 246:G457–G467.
- 17 Saluja M, Saluja A, Lerch MM, Steer ML: A plasma protease which is expressed during supramaximal stimulation causes in vitro subcellular redistribution of lysosomal enzymes in rat exocrine pancreas. *J Clin Invest* 1991;87:1280–1285.
- 18 Figarella C, Miszczuk-Jamska B, Barrett AJ: Possible lysosomal activation of pancreatic zymogens. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1988;369(suppl):293–298.
- 19 Steer ML, Meldolesi J, Figarella C: Pancreatitis: The role of lysosomes. *Dig Dis Sci* 1984;29:934–938.
- 20 Willemer S, Bialek R, Adler G: Localization of lysosomal and digestive enzymes in cytoplasmic vacuoles in caerulein-pancreatitis. *Histochemistry* 1990;94:161–170.
- 21 Lerch MM, Saluja A, Dawra R, Saluja M, Zaveritnik A, Steer D, Steer ML: Effect of intravenous chloroquine on caerulein induced pancreatitis. *Gastroenterology* 1991;100:A284.
- 22 Rinderknecht H: Activation of pancreatic zymogens. *Dig Dis Sci* 1986;31:314–321.
- 23 Lombardi B, Estes LW, Longnecker DS: Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by *DL*-ethionine fed with a choline-deficient diet. *Am J Pathol* 1975;79:465–480.
- 24 Niederau C, Grendell JH: Intracellular vacuoles in experimental acute pancreatitis are an acidified compartment. *J Clin Invest* 1988;88:229–235.
- 25 Powers RE, Saluja AK, Houlihan MJ, Steer ML: Diminished agonist-stimulated inositol triphosphate generation blocks stimulus-secretion coupling in mouse pancreatic acini during diet-induced experimental pancreatitis. *J Clin Invest* 1986;77:1668–1674.

Citation: Markus M. Lerch, Guido Adler, ***Morphologische Befunde bei der akuten Pankreatitis im Tiermodell***, pages: 43-51.

In:

Hopt U. T., Büsing M., Becker H. D. (Hrsg.), **Akute Pankreatitis – Transplantatpankreatitis**, Basel, Karger, 1994, ISBN: 3-8055-5811-2.